

中國醫藥大學藥學院  
藥物化學研究所 碩士論文

指導教授：黃麗嬌 教授

：郭盛助 教授

共同指導教授：候庭鏞 副教授

*N*-取代苄基氨基萘酸類緣物之合成與抗下痢活性

Synthesis and anti-diarrhetic activities of  
*N*-substituted benzyl anthranilic acid analogs

研究生：吳明德

**Wu Ming-Der**

中 華 民 國 九 十 六 年 六 月

## 謝辭

本論文承蒙恩師郭盛助教授及黃麗嬌教授於課業及實驗上之殷切指導與啟發，而得以順利完成，且於文稿完成時，仍不厭其煩逐字扶正，其諄諄教誨與關懷之情，將永銘於心；更尤其感謝兩位老師於生活上的照顧與關懷，並於此敬上最深謝意與敬意。亦非常感謝李安榮教授於百忙之中撥冗審查，惠與寶貴意見及指正，使得本論文得以更臻完善。

受業期間亦蒙中國醫學研究所候庭鏞教授、藥物化學研究所陳勝智教授、李珮端教授、林宗平副教授、吳錦生副教授、吳金濱副教授、黃順爵副教授、林金城副教授、候曼貞副教授、張誌祥博士、林輝章博士、翁豐富博士、廖志中博士及系所內諸位師長之關懷指導，受益非淺，由衷感謝。中央研究院蘇燦隆博士、臺北醫學院林本元教授及學長施勝傑在課業上的關心。

感謝中國醫學研究所 兆群、珊玉、嘉橙、文議、欣宜、奕瑾、書琴等各學長姐及藥物化學研究所 安正、俊仁、華鑫、昱勛、元照、昭合、立琛、建廷、士鳴、晉育、鈞達等學長及美華、美玲、雅玲、睿盈等學姐在課業上的指引；龔語慧小姐之協助，在此敬上最誠摯之謝意。感謝同學俊昇、敬哲、如芳、世良、柏舟、仕弘、肇元、家偉、珮玲、巧敏、賴啟民這兩年的日子裡，各位學長姐的教導與各學弟妹

的幫忙，感動之情將永存於心。

最後，感謝我最摯愛的父親吳正雄、媽媽林金美及親愛的姐姐吳秀玲、哥哥吳明憲的支持，嫂嫂陳美樺的支持。非常感謝老婆方淑琍小姐的支持與鼓勵，使得學業得以順利完成。另外將這一份一份畢業的喜悅分享給長女小皮妞(吳姿誼)、次子小皮(吳文硯)、大姨子(方淑貞)、張婷、宏嘉及一群可愛的小朋友竺珂、竺珉、沛蓁、湯凱羽。



## 正文目錄

中文摘要

英文摘要

第一章 緒論.....	第 001 頁
第一節 忌熱性腸毒素的致瀉機轉.....	第 001 頁
第二節 氨基葡萄糖與水楊酸衍生物的藥理活性.....	第 007 頁
第三節 配醣體的吸收代謝及其合成方法之研究概況..	第 009 頁
第四節 免疫分析法的原理.....	第 015 頁
第二章 研究動機與目的.....	第 016 頁
第三章 結果與討論.....	第 024 頁
第一節 化學合成.....	第 025 頁
壹 4-acetoxy-3-methoxy benzyl chlorid <b>3</b> .....	第 025 頁
貳 2-Substituted Phenylbenzamide 類 <b>13-20</b> .....	第 031 頁
參 2-Substituted Phenylbenzamide 類 <b>25-28</b> .....	第 036 頁
肆 Methyl substituted benzoate 類 <b>35-41</b> .....	第 041 頁
伍 2-Substituted benzyloxybenzoic acid 類 <b>45-49</b> .....	第 046 頁
陸 Salicylic acid-Glucosylation 類 <b>52-56</b> .....	第 050 頁
捌 2-[(4-hydroxy-3-methoxy)benzylamino] benzoic acid- Glucosylation <b>57</b> .....	第 055 頁

第二節 GM1-ELISA 的抗下痢活性試驗.....	第 063 頁
第三節 腸毒素下痢分析 .....	第 070 頁
第四節 藥理活性與分子模擬 .....	第 071 頁
第四章 結論.....	第 074 頁
第五章 實驗部份.....	第 079 頁
第一節 化學與藥理試驗的試藥、溶媒與材料 .....	第 079 頁
一、化學試藥 .....	第 079 頁
二、化學溶媒 .....	第 080 頁
三、化學材料 .....	第 081 頁
四、藥理試驗規格與材料 .....	第 082 頁
第二節 重要儀器 .....	第 083 頁
第三節 化合物的製備 .....	第 085 頁
參考文獻.....	第 126 頁
附錄(1)圖譜數據 .....	第 131 頁
附錄(2)實驗代號 .....	第 186 頁

## 中文摘要

本論文為 *N*-取代苄基氨基萘酸類緣物(benzyl anthranilic acid analogs)結構與活性的關係(structure and activity relationship; SAR)的研究及合成的衍伸，筆者合成了第 I-VI 類化合物。

第 I-VI 類的化合物中並以  $G_{M1}$  酵素結合免疫附法( $G_{M1}$ -ELISA)評估標的化合物對下痢活性，篩選結果顯示化合物第 VI 類中的 47、48、49 對於與忌熱型腸毒素(LTB)競爭  $G_{M1}$  接受器的結合有明顯的抑制作用，而化合物 49，經一步動物實驗結果試驗表現出明顯的抗下痢作用。

因此，化合物 47 可以當成是一個新型且具有開發潛能的抗下痢藥物。

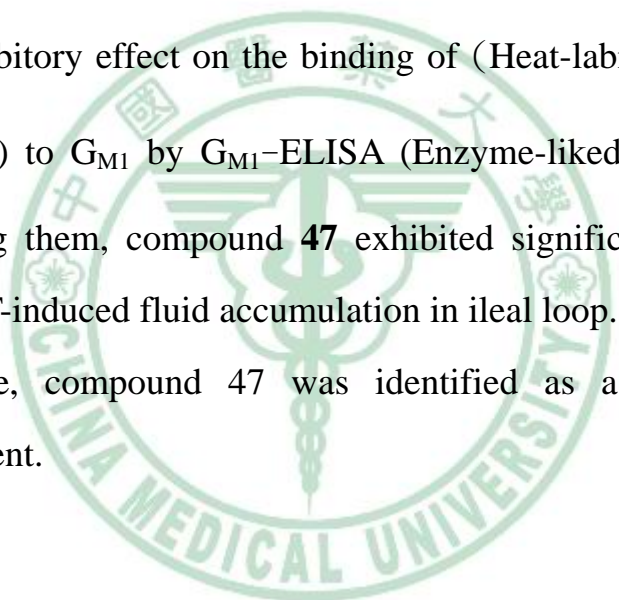


## Abstract

As part of a continuing search for potential antidiarrhea agent in benzyl anthranilic acid analogs, a series of compounds I-VI were designed synthesized.

Antidiarrheal activity of synthesized compounds were evaluated. Compounds Ethyl 2-(4-acetoxy-3-methoxy benzylamine) benzoate (47) 、 Ethyl 2-(4-hydroxy-3-methoxy benzylamine) benzoate (48) 、 2-(4-hydroxy-3-methoxy benzylamine) benzoic acid (49) showed significant inhibitory effect on the binding of (Heat-labile enterotoxin B subunit ; LTB ) to  $G_{MI}$  by  $G_{MI}$ -ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay). Among them, compound 47 exhibited significant antidiarrheal effect on the LT-induced fluid accumulation in ileal loop.

Therefore, compound 47 was identified as a new potential antidiarrhea agent.



# 第一章 緒論

本論文主要的目的係探討*N*-benzyl anthralinic acid衍生物之合成及其抗下痢的活性。在此先將忌熱性腸毒素(heat-labile enterotoxin；LT)之致瀉機轉、標的化合物之合成方法及研究動機與目的，分述如下，作為本論文之背景資料。

## 第一節 忌熱性腸毒素的致瀉機轉<sup>1</sup>

2007年，根據世界衛生組織流行病學週報(Weekly Epidemiology Record；WER)估計發生於5歲以下的小孩，有超過十五億個腹瀉的病例，並造成三百萬人的死亡，其中腸毒性大腸桿菌(enterotoxigenic *Escherichia. coli*；ETEC)所導致之腹瀉估計有2億人以上，其所造成的死亡約有38萬人<sup>2</sup>。

另外，2005年，世界衛生組織的統計資料顯示，接獲52個國家通報有霍亂，總計有131943例，其中2272例造成死亡，死亡率為1.72%。2005年病例數比起2004年有明顯增加，增加率為30%，特別是西非的爆發流行，有14個國家受到影響，這些國家累計的病例數佔全球病例數的58%<sup>3</sup>。

根據2007年，我國疾病管制檢疫流行傳染病流行地區一覽表，顯示全球，有五十六個國家有霍亂案例發生<sup>4</sup>。



如 Figure 1 所示，腸上皮細胞膜表面神經節苷脂  $G_{M1}$  ( $G_{M1}$  ganglioside)<sup>5</sup> 是霍亂弧菌(*Vibrio cholera*)分泌的霍亂毒素(cholera toxin ; CT )和致病性的大腸桿菌屬中的腸毒性大腸桿菌所分泌的志熱性腸毒素(Heat-labile enterotoxin ; LT )的天然受體，兩者是分別造成霍亂和旅行者腹瀉的主要原因<sup>6</sup>。

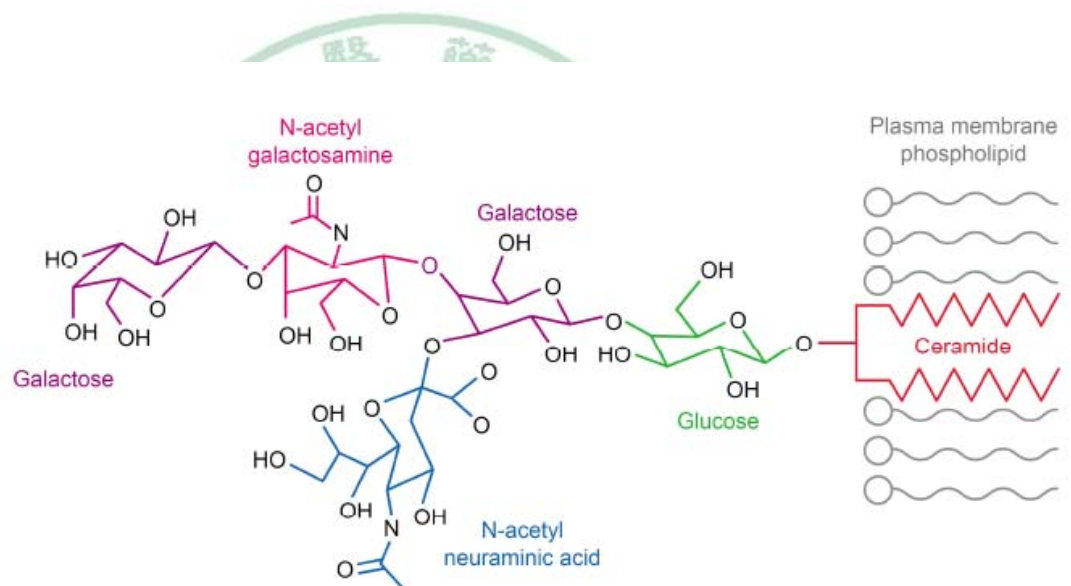


Figure 1.  $G_{M1}$  ganglioside 的結構

如 Fig.2 所示，CT 與 LT 在結構及功能上極為相似，兩者同屬細菌性 AB<sub>5</sub> 毒素族 (bacterial AB<sub>5</sub> toxin)<sup>7</sup> 中的霍亂毒素家族 (cholera toxin family)。細菌性 AB<sub>5</sub> 毒素族是指細菌在型態上皆由一個次單元 A (subunit A) 與五個次單元 B (subunit B) 所組成的六元全毒素 (hetero-hexameric holotoxin) 的毒蛋白結構<sup>8</sup>。

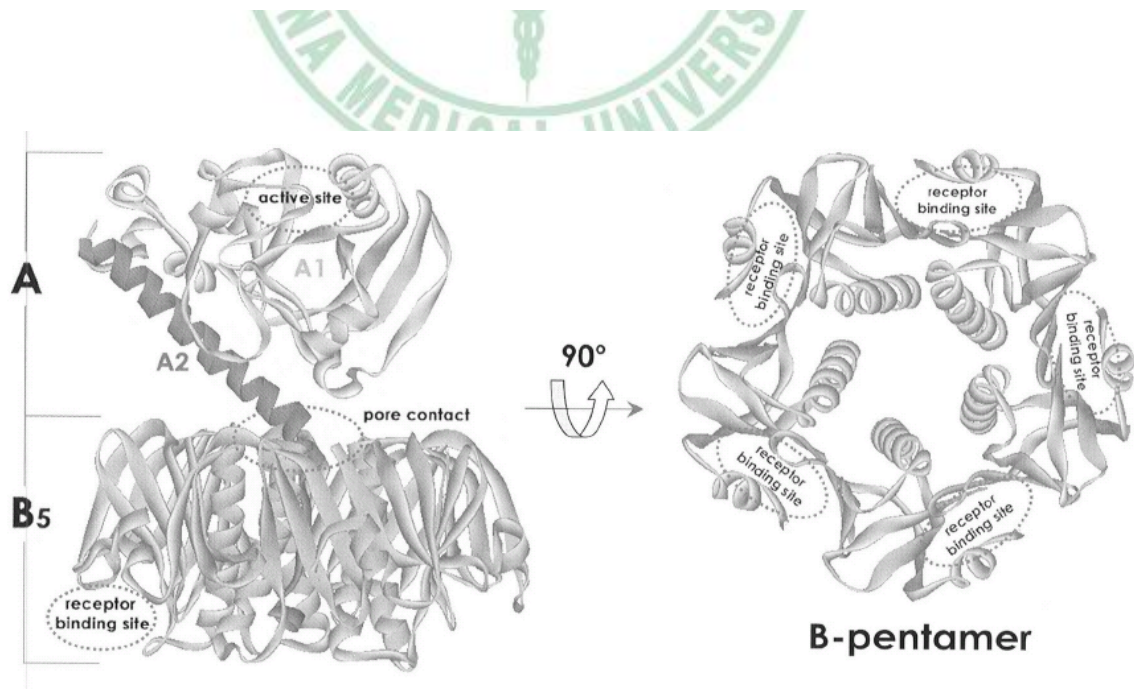
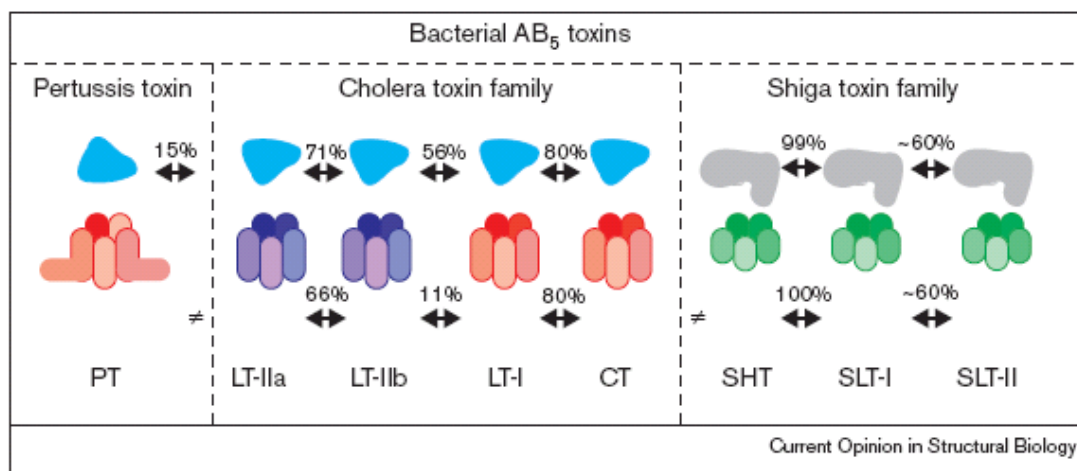


Figure 2. 熱性腸毒素的結構

如 Figure 3 所示，LT 與 CT 的蛋白質結構有 80% 的相似程度，故一般認為兩者之致瀉機轉相似；它們利用宿主細胞內的運輸機制而得以進入細胞溶質(cytosol)<sup>9</sup>，在細胞溶質內發揮它們有害的活性<sup>10</sup>。這些毒素可以藉由它們的 B 次單元體( B subunit)來辨認位於小腸上皮粘膜感染性細胞表面的  $G_{M1}$  接受器上神經節苷脂上醣蛋白質(glycoprotein)中的五醣部分 (pentasaccharide)與之結合<sup>11,12</sup>，促使粘膜細胞藉由胞飲作用將毒素攝入，幫助 A 次單元體(subunit A)進入細胞質。隨後 A 次單元體(subunit A)雙硫鍵橋(disulfide bridge)經細胞內酵素的作用，斷裂成  $A_1$  及  $A_2$  兩小單元，而  $A_1$  從毒素的其它部分脫離<sup>13</sup>並逆行(retrograde route)入內質網(endoplasmic reticulum)<sup>14</sup>，並且易位到細胞質(cytosol)。

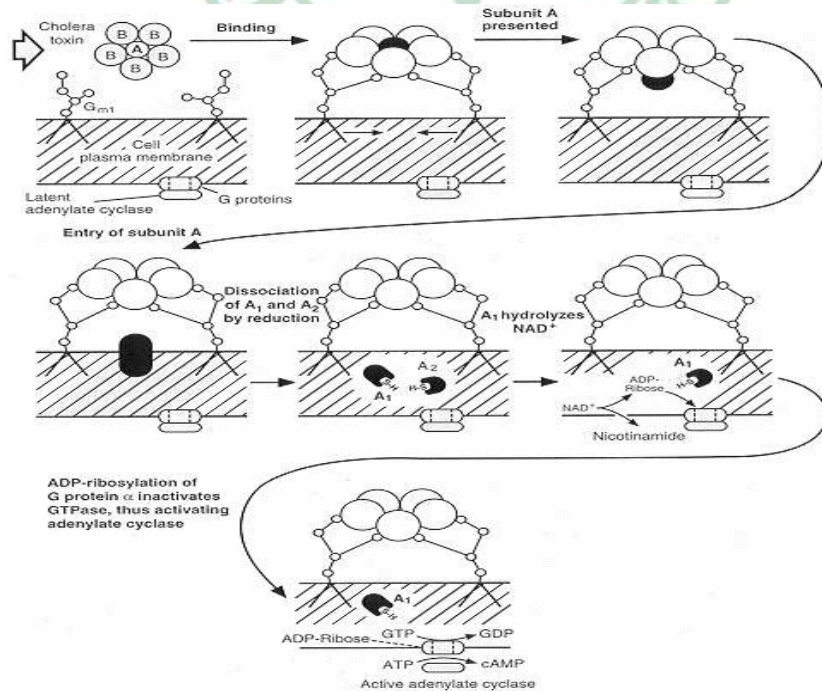


Figure 3. LT 與  $G_{M1}$  結合，進入腸細胞內的作用機轉<sup>15</sup>。

如 Figure 4A 所示，A1 具有二磷酸腺苷-核糖基轉移酶 (ADP-ribosyltransferase) 的活性會刺激 ADP-核糖 (ADP-ribose)，使其轉移到具有控制腺苷環化酶 (adenylate cyclase; AC) 活性的三磷酸鳥嘌呤核糖 (guanosine triphosphate; GTP) 結合蛋白 Gs 中，使 AC-Gs 變為 AC-Gs-ADPR，然後與 GTP 結合形成活化且安定的複合物 AC-Gs-(-ADPR)-GTP。這種複合物不會受 Gi 作用而失去活性，這使得 adenylylase 持續性的被活化，促使細胞內三磷酸腺苷 (ATP) 不斷轉變為環磷酸腺苷 (cAMP)。cAMP 濃度急劇升高與持續的活動，將繼續不斷的活化蛋白動素 A (protein kinase A)，抑制腸粘膜細胞對鈉的正常吸收，並刺激腸腔隱窩細胞分泌  $\text{Cl}^-$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{HCO}_3^-$ 、 $\text{H}_2\text{O}$  等，不斷的經腸細胞進入腸管內而出現劇烈的水樣狀腹瀉<sup>16</sup>。

如 Figure 4B 所示，在人體正常的生理狀況下，AC-Gs-GTP 一旦形成，即將 ATP 轉變為 c-AMP，隨後會被 Gi 分解為 Ac-Gs 及 GDP，此過程不斷重覆，使 c-AMP 維持正常之生理功能。

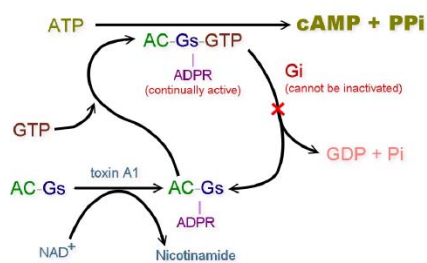


Figure 4A

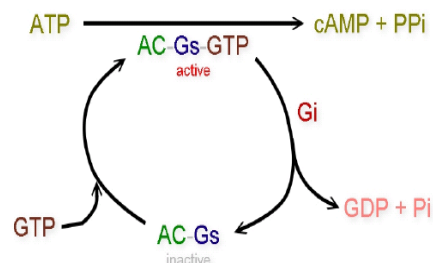


Figure 4B

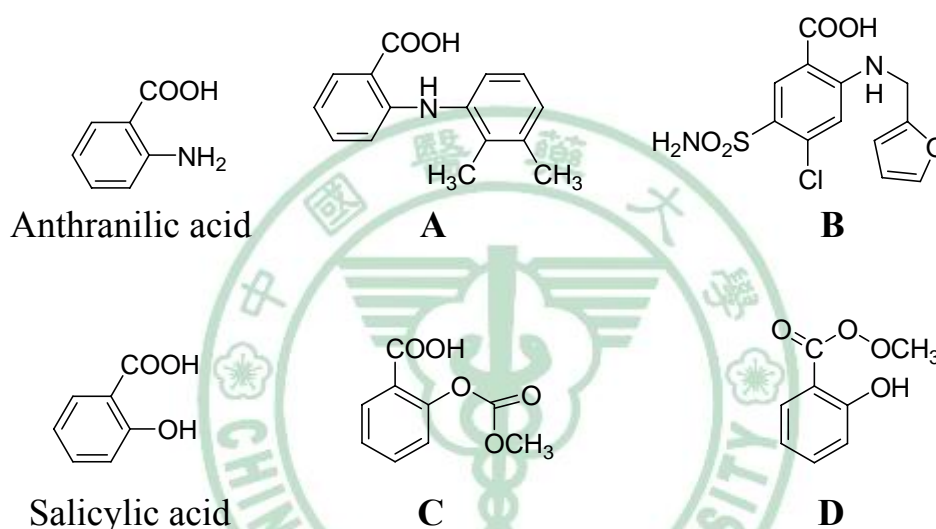
Figure 4. 腹瀉的作用機制<sup>17</sup>

下痢的一般處理基本原則是減少體液與電解質的流失，避免水分及電解質失衡所引起不良的生理反應，通常給予可修飾液體及電解質運輸之藥物；藥物治療則依其產生的症狀給予不同的吸附劑(adsorbants)使其在於胃腸道表面形成保護粘膜來吸附細菌與毒素，經由糞便中排出體外或調配類鴉片(opioids)的鎮痛劑及抗膽素性藥等抗蠕動性藥物(antimotility agents)止瀉劑。對於細菌性痢疾通常是屬於較嚴重的急性腹瀉，抗生素具顯著的療效，但長期使用抗生素會有導致抗藥性菌株的出現，因此並不建議作為預防性用藥<sup>18</sup>。過去十年來，quinolones 類抗菌藥(如 ciprofloxacin)被建議作為旅行者對抗下痢的預防性用藥 但是這類藥不適用於小孩及孕婦，而且其抗藥菌株也逐漸被分離出來。至今，尚未有屬於直接拮抗致瀉機制的 G<sub>M1</sub> ganglioside receptor 與 LT 及 CT 的任何藥物，因此開發 GM1 receptor antagonists 對於細菌性下痢的治療將可提供更理想、更安全的新型抗下痢藥物。

本校中國醫學研究所候庭鏞教授應用忌熱型腸毒素的 B 次單元(LTB)與 G<sub>M1</sub> ganglioside receptor 結合的原理，建立一套 G<sub>M1</sub>-ELISA 之快速篩選方法，來測試化合物抑制 LTB 與 G<sub>M1</sub> ganglioside receptor 結合的情形，本研究用此法測試標的物的抗下痢活性。CT 與 LT 主要的胺基酸序列有高達 80%的相似度，因此在以 LTB 測試藥理活性，同時也期望化合物對 CT 所造成的下痢亦具有同樣的抗下痢活性。

## 第二節 氨基酸與水楊酸衍生物的藥理活性

結構上屬於氨基酸(anthranilic acid)的衍生物的藥物，不勝枚舉，例如非類固醇類解熱鎮痛劑(NSAIDs)的 mefenamic acid (A)與利尿劑 furosemide (B)。而結構上屬於水楊酸(salicylic acid)的衍生物的藥物，例如 acetylsalicylic acid (C)、methyl salicylate (D)。



另外，如 Figure 5 所示，在 anthranilic acid 及 salicylic acid 的衍生物中具有 benzylamino benzoic acid 或 benzyloxy benzoic acid 的骨架者亦具有不同的藥理活性，例如從植物 *Onosma hispidum* 分離出的成分 onosmin A (E) 及 onosmin B (F) 為 lipoxygenase Inhibitors<sup>19</sup>。O-Benzyl-6-chlorosalicylic acid (G) 之降血糖活性 (hypoglycemic activity) 優於 N-benzyl-6-chloroanthranilic acid (H)<sup>20</sup>。m-Carboxyphenylated anthranilic acids (I) 和 o-trifluoromethylphenylated anthranilic acid (J) 對甲狀腺素結合前白蛋白 (transthyretin; TTR) 的抑制活性優於 carboxy

benzylated anthranilic acid (**K**, **L**, **M**)<sup>21</sup>。2-[(4-(2-Na phthyloxy) benzyl amino] benzoic acid (**N**)衍生物具有抑制人類免疫球蛋白抗體製造的活性<sup>22</sup>。Mono-octyl ester  $\alpha$ -(2-carboxyanilino) benzyl phosphonic acid (MOCABP)(**O**) 可當做萃取時除去金屬的螯合劑<sup>23</sup>。

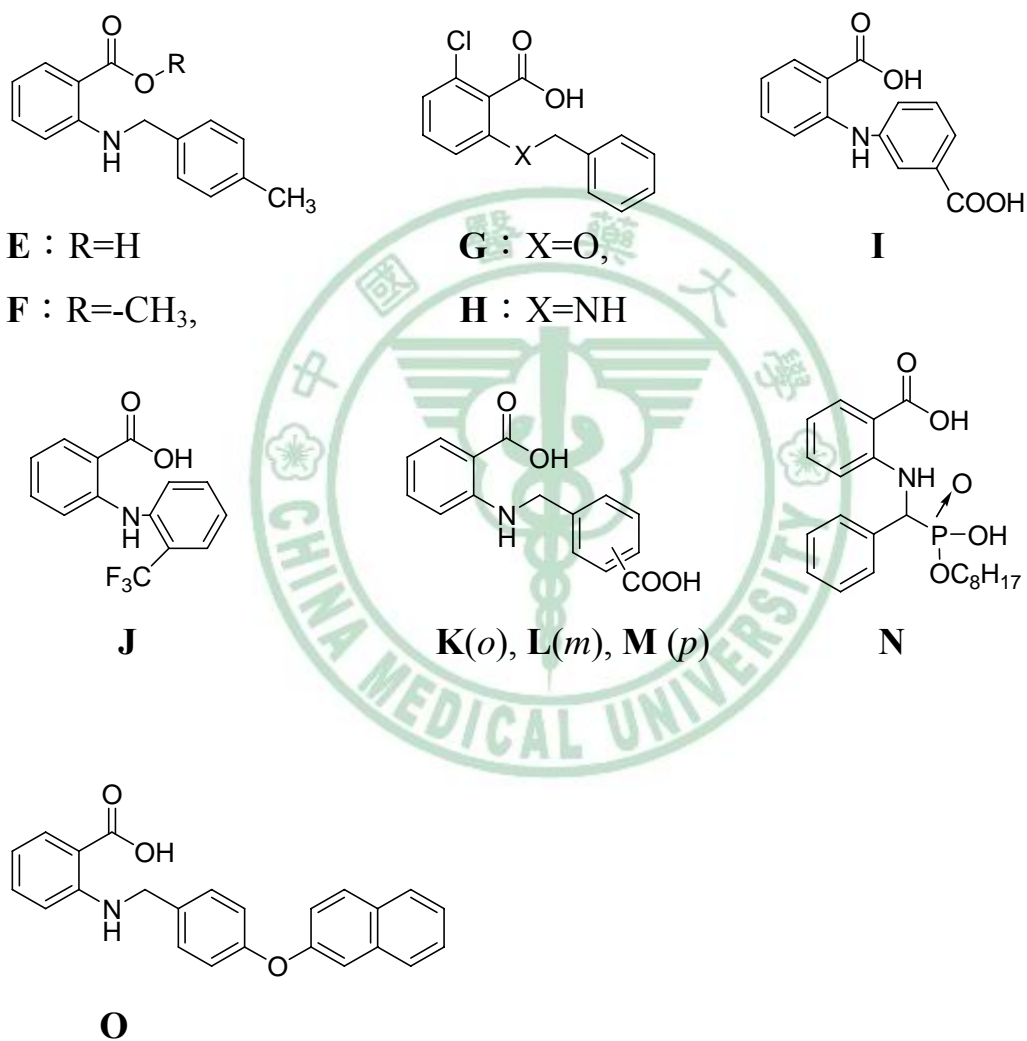


Figure 5. 氨基酸與水楊酸衍生物

### 第三節 配醣體的吸收代謝及其合成方法之研究概況

碳水化合物稱為醣，其分子結構屬多羥基醛或多羥基酮，例如肝醣、纖維質、澱粉等；具有甜味的醣類則稱為糖，例如葡萄糖、麥芽糖等。醣類主要功能是供給熱能、幫助脂肪在體內代謝、形成人體內的物質、調節生理機能等。醣類根據其水解產物大致可分為四類：單醣類、雙醣類、寡醣類、多醣類。

自然界中存在最多且最廣泛的單醣是葡萄糖(Grape sugar ; Glucose)，因其具有右旋光性故又稱右旋糖(Dextrose)，而葡萄糖在溶液中時的分子結構C<sub>1</sub>位醛基與C<sub>5</sub>位羥基形成分子內半縮醛(hemiacetal)的環形結構，通常環狀式比開鏈式結構更佔優勢且大部分形成椅形(chair form)。環狀吡喃糖其第一位的異位體碳或稱環醣差向碳原子(C1-anomeric carbon atom)具有不對稱性，由於半縮醛很容易被水解，所以在開環與閉環的平衡中會進行旋光互變或稱旋變(mutarotation) (Figure 6)，最後在溶液中形成 $\alpha$ -D-葡萄糖吡喃糖( $\alpha$ -D-Glucopyranose)與 $\beta$ -D-葡萄糖吡喃糖( $\beta$ -D-Glucopyranose)的混合物。在 $\alpha$ -D-葡萄糖吡喃糖的C<sub>1</sub>-OH是軸型(axial ; a)，其餘為赤道型； $\beta$ -D-葡萄糖吡喃糖的所有羥基都是赤道型(equatorial ; e)<sup>24</sup>。



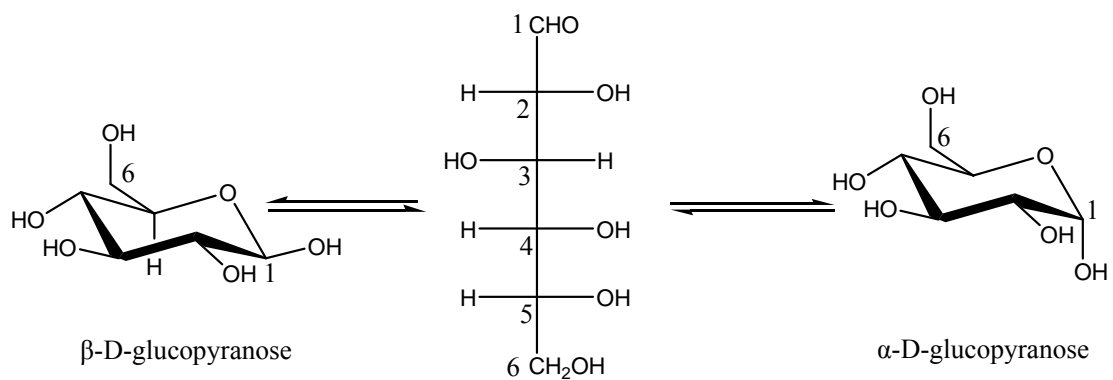


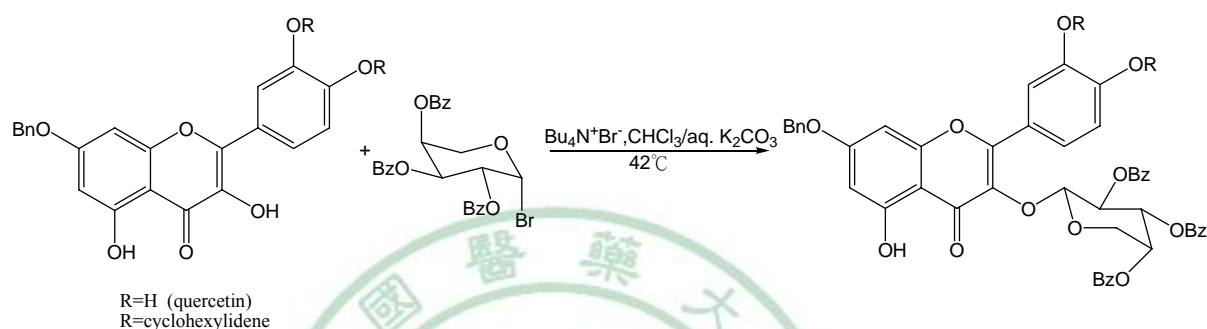
Figure 6. D-glucose 之不同型式

### 壹、 黃酮類配醣體之吸收代謝研究概況<sup>25</sup>

黃酮類配醣體是黃酮類上 hydroxy 基與醣類的 hemiacetal hydroxy 基以 ether linkage 結合而成的化合物，此類化合物廣泛的分佈於水果、蔬菜以及中草藥成分。很多的黃酮類配醣體都具有優越的生物活性，如抗氧化、抗炎及抗癌等。由相關之文獻報告得知<sup>26</sup>，一般認將黃酮類配醣體經口服投與後，因其極性偏高不易被吸收，須先受腸道菌群所分泌的酶(如  $\beta$ -glucosidase)將其水解成苷元(aglycone)後才從腸道被吸收，進入血液後在肝臟被轉化成 glucuronide 後，一部份隨膽汁排入腸腔再受到腸道內的 glucuronidase 分解成 aglycone 再被吸收，引起藥物的腸肝循環，一般而言吸收的情形良好。

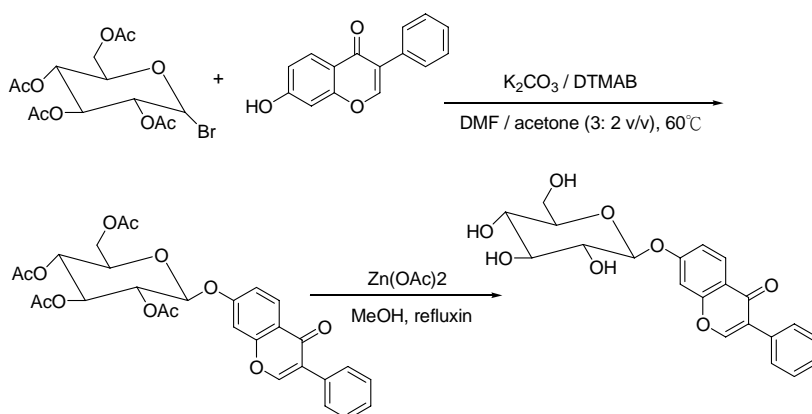
## 貳、配醣體的合成方法之研究概況

方法(一)：如 Scheme 2 所示<sup>27</sup>，將 quercetin 或具 cyclohexylidene 取代之 quercetin 與 2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-arabino pyranosyl bromide 與  $\text{Bu}_4\text{N}^+\text{Br}^-$  加入  $\text{K}_2\text{CO}_3$  水溶液及  $\text{CHCl}_3$  中，於  $42^\circ\text{C}$  下反應，得到相對應之 glycoside。



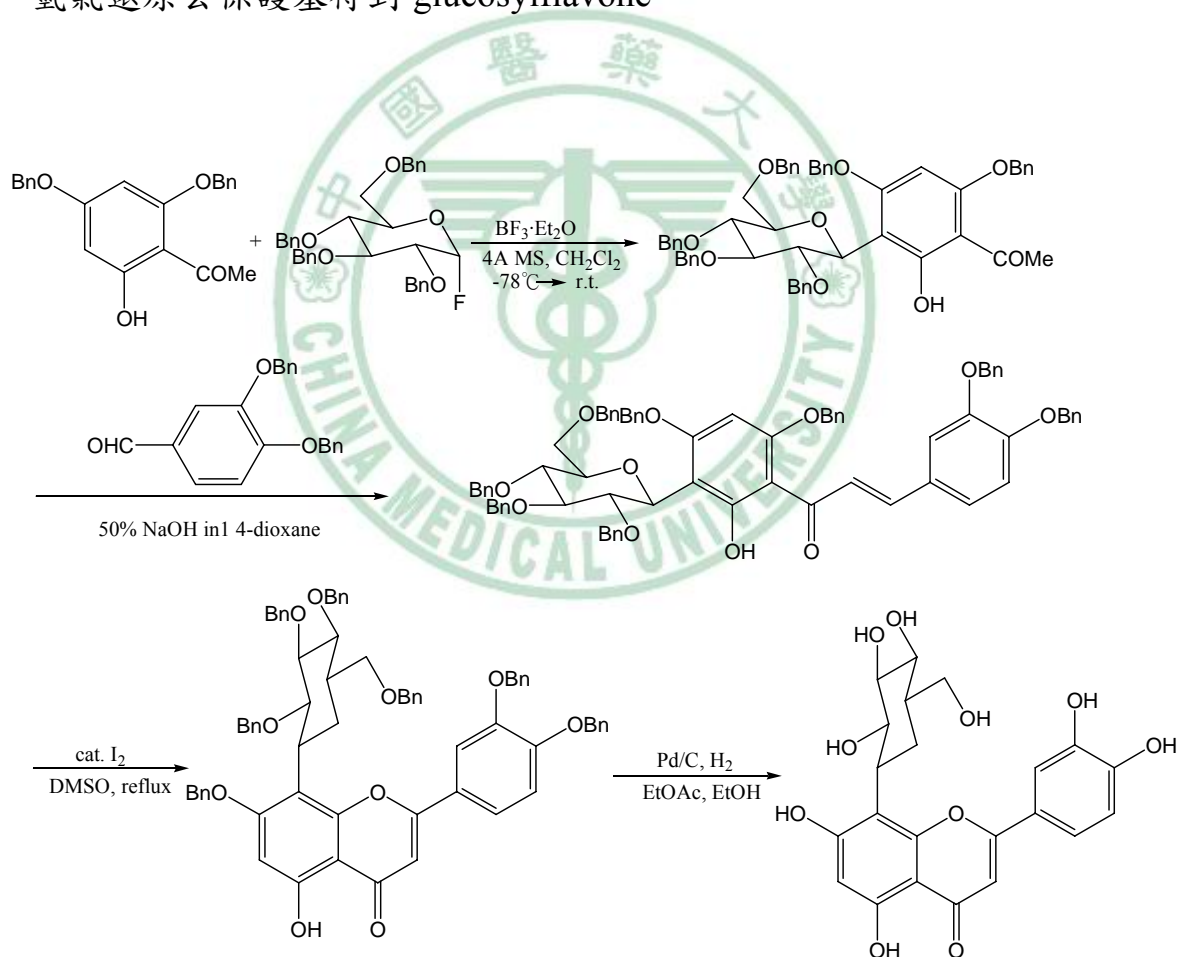
Scheme 2

方法(二)：如 Scheme 3 所示<sup>28</sup>，將 isoflavone 及 anhydrous potassium carbonate 及 dodecyltrimethylammonium bromide (DTMAB) 溶於 DMF/acetone (3:2 v/v) 中，隨後再加入  $\alpha$ -acetyl bromo glucose，維持  $60^\circ\text{C}$  反應 5 小時。再以 zinc acetate 與 methanol 加熱迴流反應 7 小時，去除醣上的保護基後，則可獲得相對應的糖。



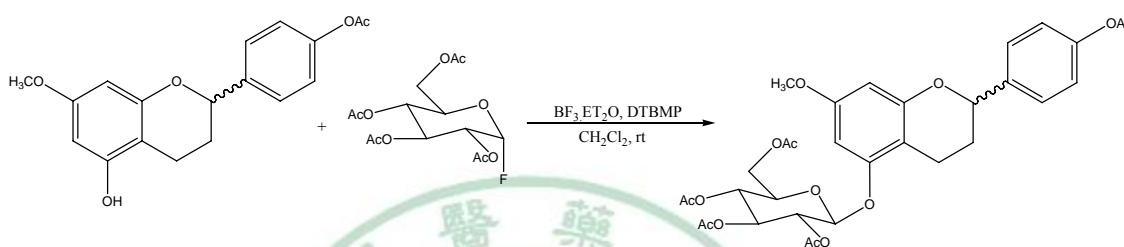
Scheme 3

方法(三)：如 **Scheme 4** 所示<sup>29</sup>，將 2,4-bis-dibenzyloxy-6-hydroxyl acetophenone 與 benzyl protected glucopyranosyl fluoride 以  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  為 activator 於低溫下反應生成 4,6-bis-benzyloxy-3-C-(2,3,4,6,-tetra-*O*-benzyl-gluco-pyranosyl)-2-hydroxyacetophenone，此化合物與 3,4-bis-benzyloxy-benzaldehyde 及 50% NaOH 在 1,4-dioxane 中反應生成 chalcone，將此 chalcone 與 iodine 於 DMSO 中加熱迴流反應脫去其 benzyl 保護基並環化 2'-hydroxychalcone 成為 flavone，再使用 Pd/C 及 氫氣還原去保護基得到 glucosylflavone。



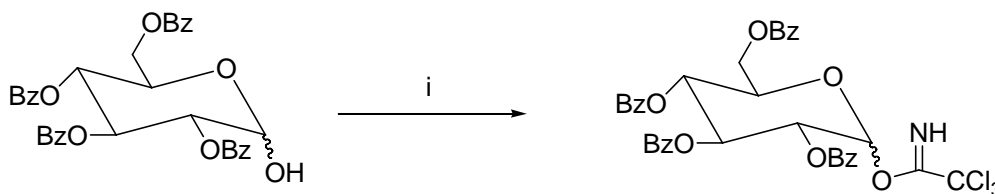
Scheme 4

方法(四)：如 **Scheme 5** 所示<sup>30</sup>，取 4'-acetoxy-5-hydroxy-7-methoxyflavan、acetofluoro- $\alpha$ -D-glucose 與 2,6-di-*tert*-butyl-4-methylpyridine (**DTBMP**)及 boron trifluoride diethyl ether complex ( $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ ) 在室溫下反應,則生成 4'-acetoxy-5-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-7-methoxy-flavan。



**Scheme 5**

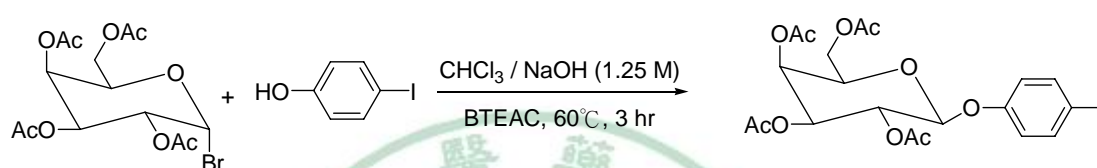
方法(五)：如 **Scheme 6** 所示<sup>31</sup>，將碳酸鉀(60.8 mmole)加入 2,3,4,6,-tetra-*O*- benzoyl-D-glucopyraose(12,2 mmole) ,  $\text{Cl}_3\text{CCN}$ (73.45 mmole), in  $\text{CH}_2\text{CL}_2$  (100 ml)的混合液，室溫下攪拌 6 天，過濾及濃縮。進行管柱層析得相對產物。



i :  $\text{Cl}_3\text{CCN}$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}$ ,  $20^\circ\text{C}$ , 6 days, 86 %.

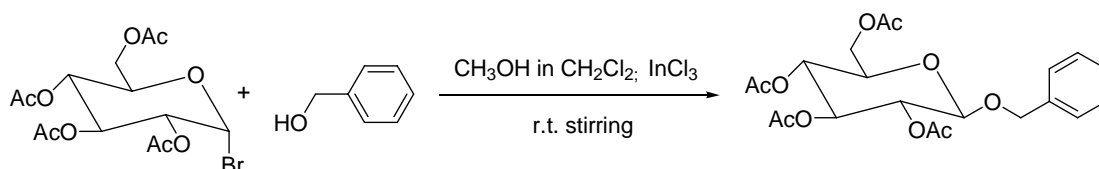
**Scheme 6**

方法(六)：如 Scheme 7 所示<sup>32</sup>，將  $\alpha$ -acetyl bromoglactose 與 4-iodophenol 溶於氯仿，加入 1.25M 氫氧化鈉水溶液形成二相混合液，加入 benzyltriethylammonium chloride (BTEAC) 當成相的轉移催化劑，在 60°C 下反應，3 小時，得到 1-*O*-(4-Iodophenyl)-2,3,4,5-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranoside (70%)



Scheme 7

方法(七)：如 Scheme 8 所示<sup>33</sup>，將 glycosyl bromide (500 mg, 1.2 mmole) 及 benzyl alcohol (0.1 ml, 1.2 mmole) 放入新鮮製備的二氯甲烷(8 ml)。反應液再加入 indium chloride ( $\text{InCl}_3$ ; 110 mg, 0.5 mmole) 後，於室溫下攪拌，隔夜，得到 benzyl 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranoside。



Scheme 8

#### 第四節 免疫分析法(Immunoassay)的原理

本研究係利用免疫分析法進行標的化合物之抗下痢活性試驗，故將其原理敘述於下。

一般能夠誘發生物體發生免疫反應之物質稱為抗原(anti-gen)，抗原分子上能被免疫系統所辨識之部位，稱為抗原決定部位(epitopes)。每個抗原決定部位至少都可誘生出一種抗體，而一個抗原分子表面通常具有多個抗原決定部位，因此能誘發多種不同抗體產生，稱多價抗原(multivalent antigens)。相應於抗原而發生免疫之球蛋白，且對特定抗原具專一性，稱為抗體(anti-body)。

酵素連結免疫吸附分析(Enzyme-linked Immunosorbent Assay；ELISA)，是根據 Berson 和 Yalow 博士在 1960 年代，提出「競爭性蛋白質結合原理」為基礎所衍生出的技術<sup>34</sup>。其原理是在抗原或抗體分子上接一特定酵素(horseradish peroxidase, HRP 或 alkaline phosphatase, AP 等)當抗原與抗體反應後，可用此酵素催化特定受質，使受質進行呈色反應，經肉眼比較或儀器判讀即可測定出待測物。此為常用之免疫分析法，具廣泛性及經濟性，檢測能力亦有一定水準<sup>35</sup>。

此技術具有高度靈敏度、專一性和準確性等優點，因此廣泛應用於內分泌、藥品、毒性物、病毒、細菌及腫瘤等相關抗原之測定。

## 第二章 研究動機與目的

### 壹、 化合物的設計

根據本實驗室對抗下痢的分子結構與活性的關係(structure-activity relationship ; SAR)研究中發現 2-(4-methoxybenzyloxy) benzoic acid (P)、2-(4-methoxy benzyl- amine) benzoic acid (Q)及 2-methoxy-3-hydroxy phenylpropan-2-one(R) 等三種化合物具有明顯的抗下痢活性，三者的結構中 A 環第三位或第四位的 OH 或 OCH<sub>3</sub> 是重要的官能基，於是設計出 2-[(4-hydroxy benzylamino)] benzoic acid (49)及其衍生物 (48) (47)為標的化合物 (Fig.7).

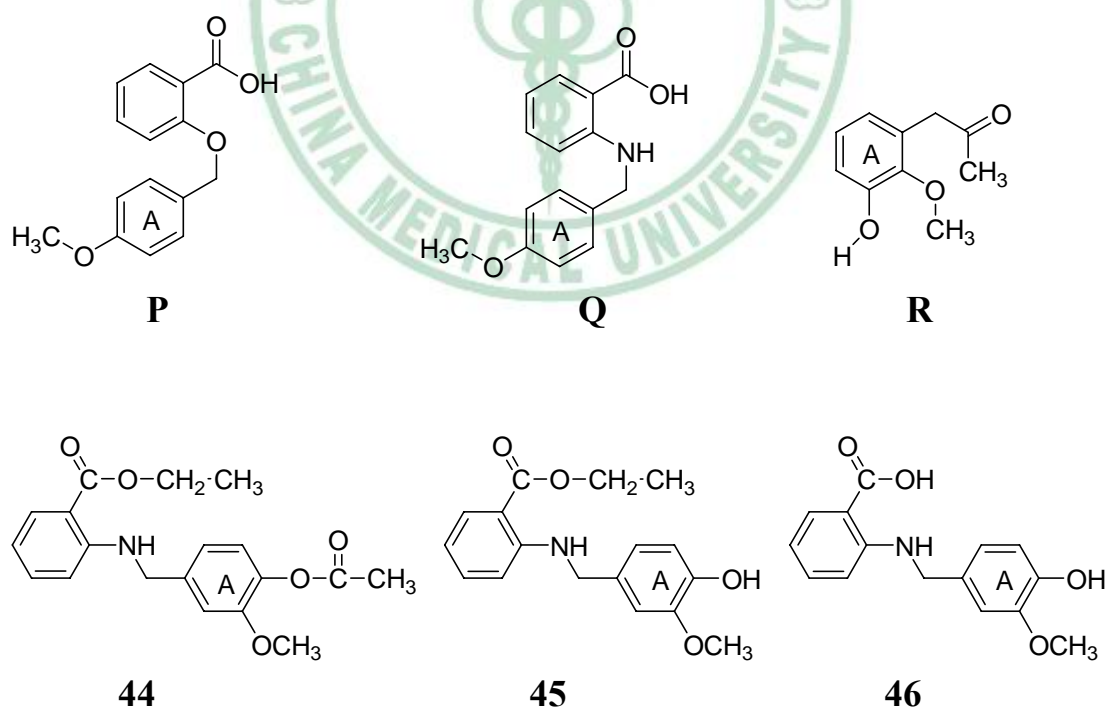


Figure 7, 標的化合物的設計

## 貳、 分子模擬的進行

為預測標的化合物對抗下痢的活性，筆者著手利用分子模擬 (molecular modeling 進行對接研究(docking study)以分析化合物與忌熱性腸毒素 LTB 鍵結情形，並以其計分值(score)來決定其活性的相對大小，結果如 Figure 8 所示，化合物 44 之 score 值，如所預期，計分值高於 P 及 Q。P、Q、R、44、45、46 進行分子模擬的情形分別如 Figure 8、Figure 9、Figure 10、Figure 11、Figure 12、Figure 13。

根據分子模擬的結果，化合物 **P**、**Q**、**R** 三者結構中 A 環甲氧基  $\text{OCH}_3$  的 O 原子與 LYS 91 產生氫鍵。**P**、**Q** 二者結構中  $\text{COOH}$  的 O 原子與 ARG 13 產生氫鍵；化合物 **R** 結構中  $\text{OH}$  的 O 原子與 LYS 91 產生氫鍵；而  $\text{OH}$  的 H 原子與 GLU 51 產生氫鍵。化合物 **44**、**45**、**46** 三者結構中 A 環甲氧基  $\text{OCH}_3$  的 O 原子與 LYS 91 產生氫鍵。化合物 **45**、**46** 二者結構中  $\text{COOC}_2\text{H}_5$  中的 O 原子與 ARG 13 產生氫鍵；而化合物 **46** 的  $\text{COOH}$  與 TRY 12 產生氫鍵。化合物 **44** 結構中 A 環的  $\text{OCOCH}_3$  中的 O 原子與 LYS 91 產生氫鍵及  $\text{OCOCH}_3$  中的 O 原子與 ASN 90 產生氫鍵。化合物 **45**、**46** 二者結構中 A 環結構中羥基  $\text{OH}$  的 O 原子與 LYS 91 產生氫鍵；而  $\text{OH}$  的 H 原子與 GLU 51 產生氫鍵。



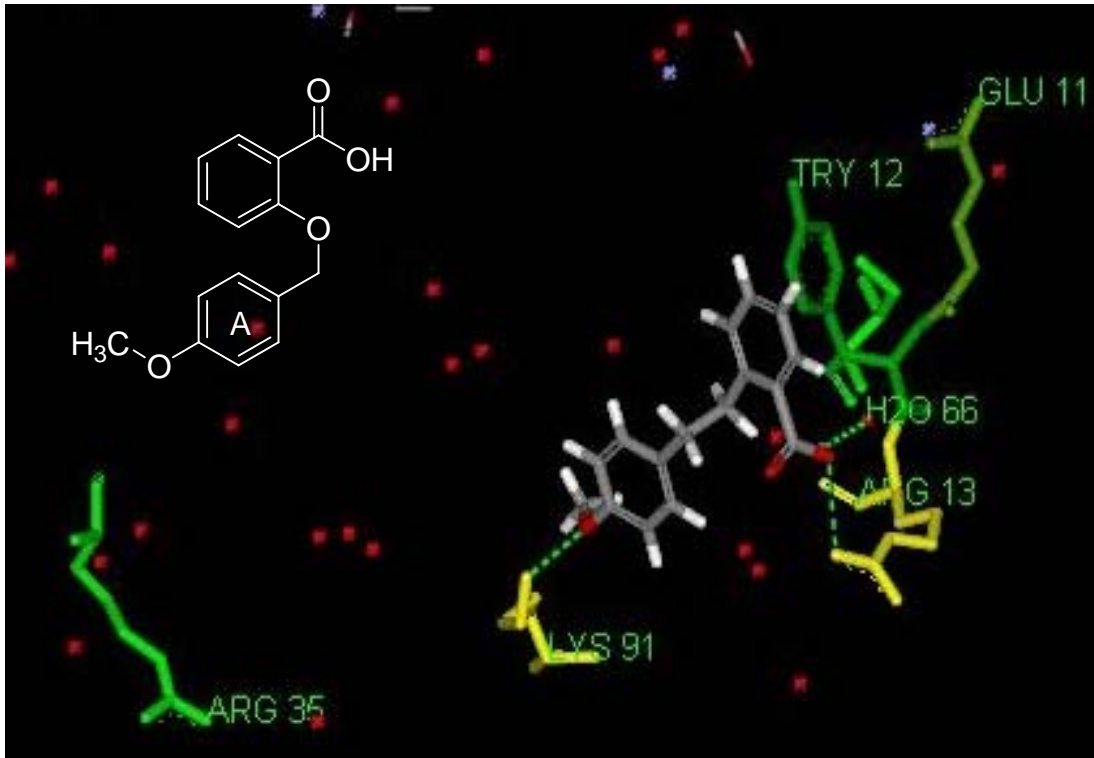


Figure 8. P 與 LTB 進行分子模擬的鍵結情形，其 score：40.484

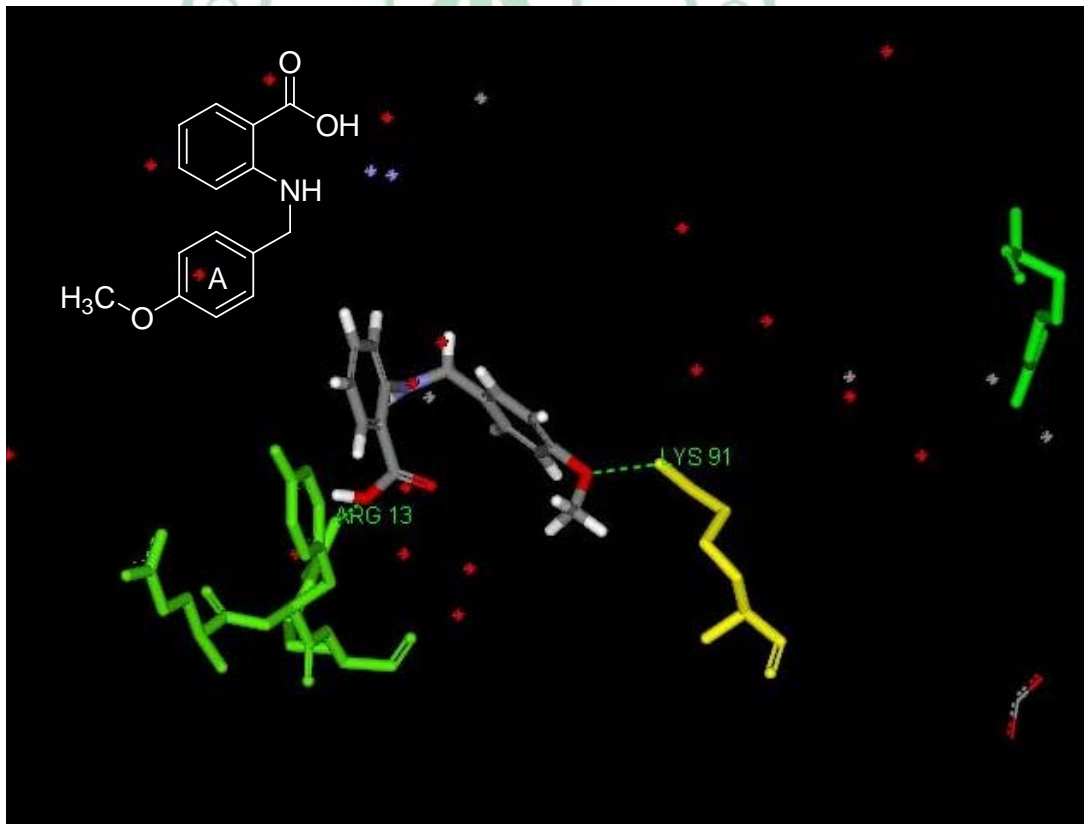


Figure 9. Q 與 LTB 進行分子模擬的鍵結情形，其 score 40.994

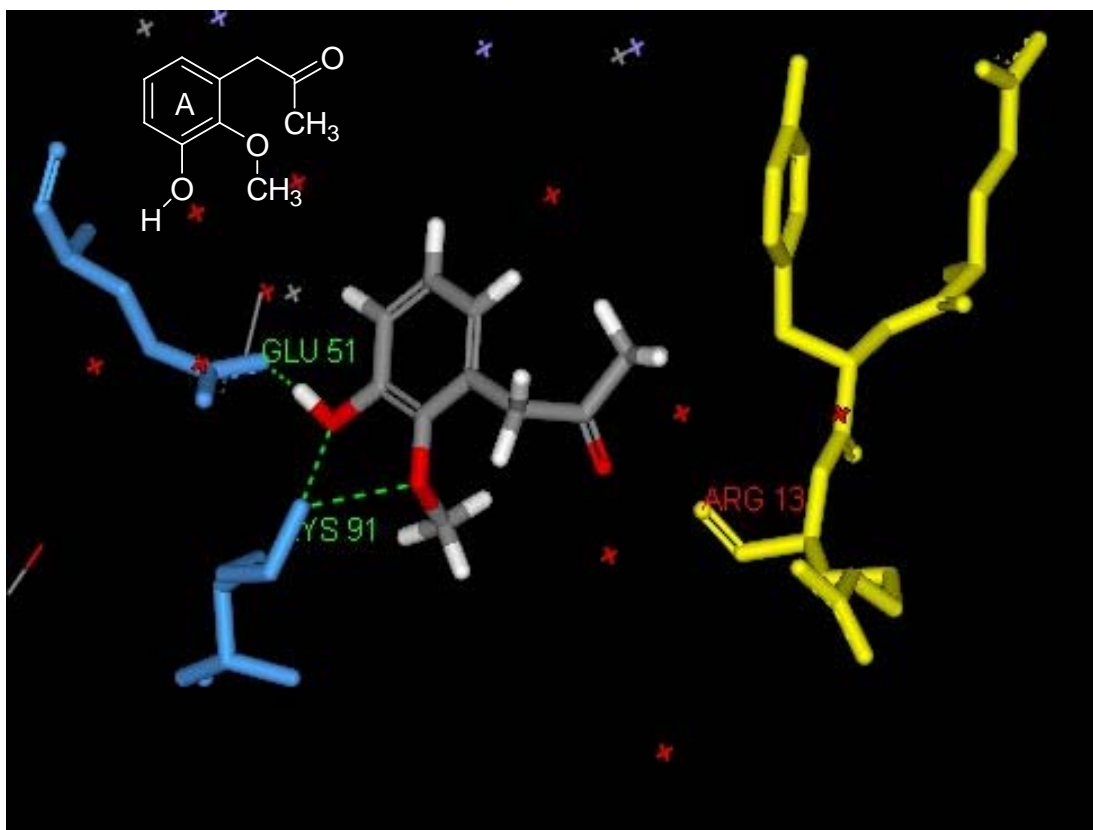


Figure 10. **R** 與 LTB 進行分子模擬的鍵結情形，其 score 45.039

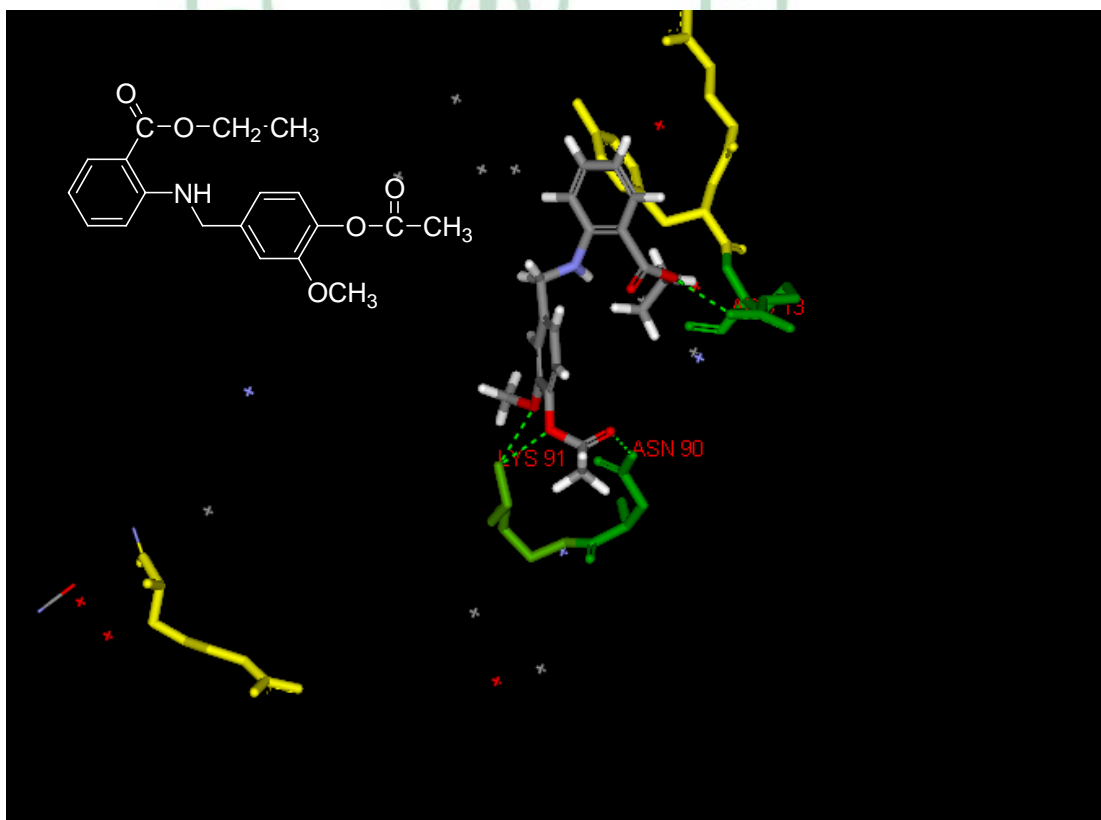


Figure 11. **44** 與 LTB 進行分子模擬的鍵結情形，其 score 52.987

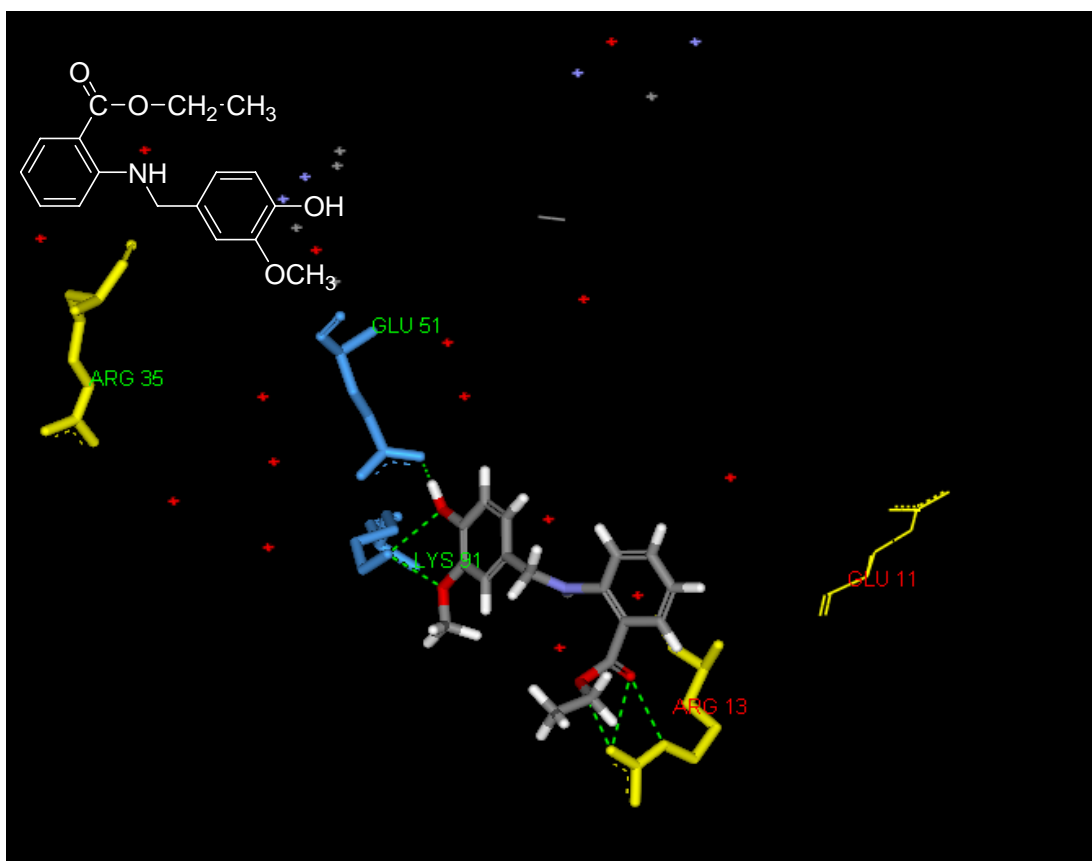


Figure 12. **45** 與 LTB 進行分子模擬的鍵結情形，其 score 52.131

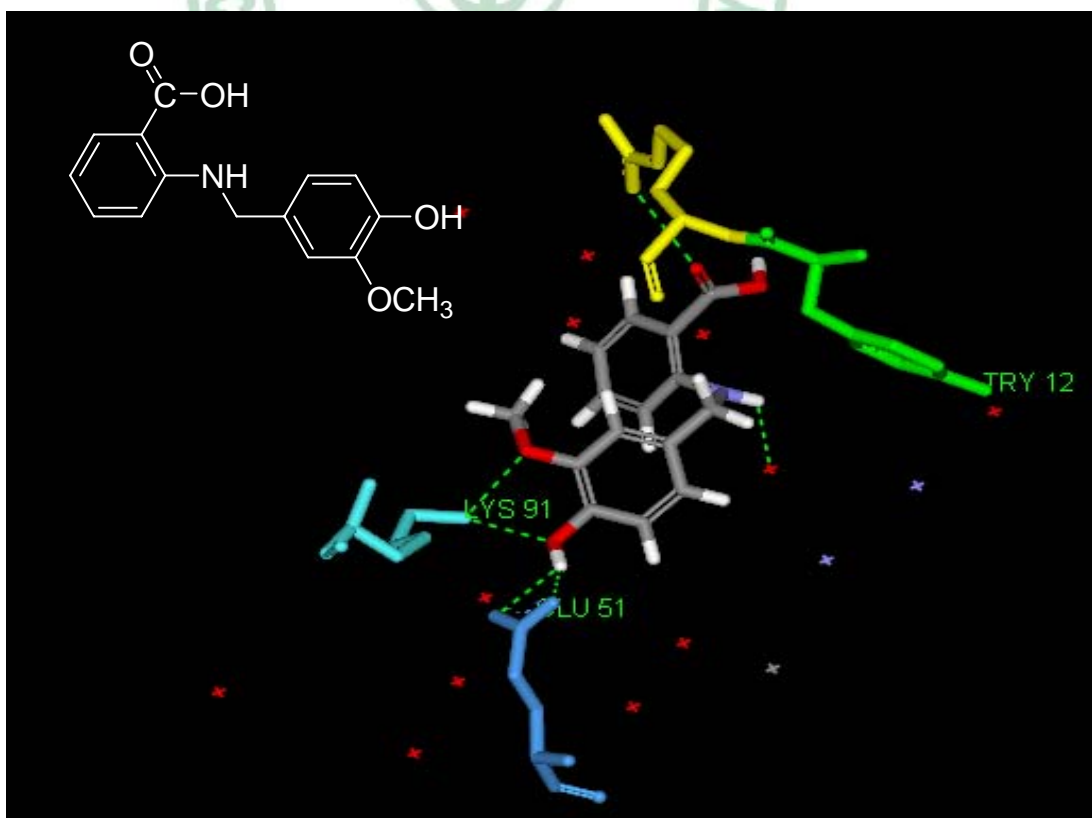


Figure 13. **46** 與 LTB 進行分子模擬的鍵結情形。 Score : 49.662

綜合上述 Figure (8-13) 結果所示，由電腦進行分子模擬的鍵結情形可以發現依 hydrogen binding interaction 鍵結可分成兩組(1)P、Q、R 皆與 LT 酵素中的 Lys 91 及 Arg 13 胺基酸有產生氫鍵的交互作用；但 R 是唯一缺少與 Arg 13 有交互作用，其分數最低。(2)44、45、46 皆與三個胺基酸有產生氫鍵的交互作用，此組分數皆高於第(1)組的分數。44、45、46 皆與 Lys 91 及 Arg 13 產生氫鍵的交互作用。44 又另與 Asn 90 有產生氫鍵的交互作用，45 與 46 都與 Glu 51 有產生氫鍵的交互作用。

化合物 44、45、46 抑制 LTB<sub>4</sub> 之作用活性高於化合物 P、Q、R 是合理的推測。同時，44 作用於 LT 的 Lys 91 與 Asn 90 此與文獻記載的必要活性位是相同的，其活性也應是 P、Q、R、44、45、46 六個化合物中活性最高者。

### 參、 其它類緣化合物的合成

在進行標的化合物合成的同時，筆者參考本實驗室的學長姐論文中所提之結構與活性之關係(structure-activity relationship；SAR)，合成*N*-substituted benzyl anthranilic acid 相關的衍生物 I、II、III、IV、V、VI (Fig.9)以做為抗腹瀉的體外試驗(in vitro)，希望可以篩選出可競爭性抑制GM1 與LT 或CT 的結合，藉以阻斷之後的訊息傳遞，而達到抗下痢活性的化合物，以進行藥物篩選。

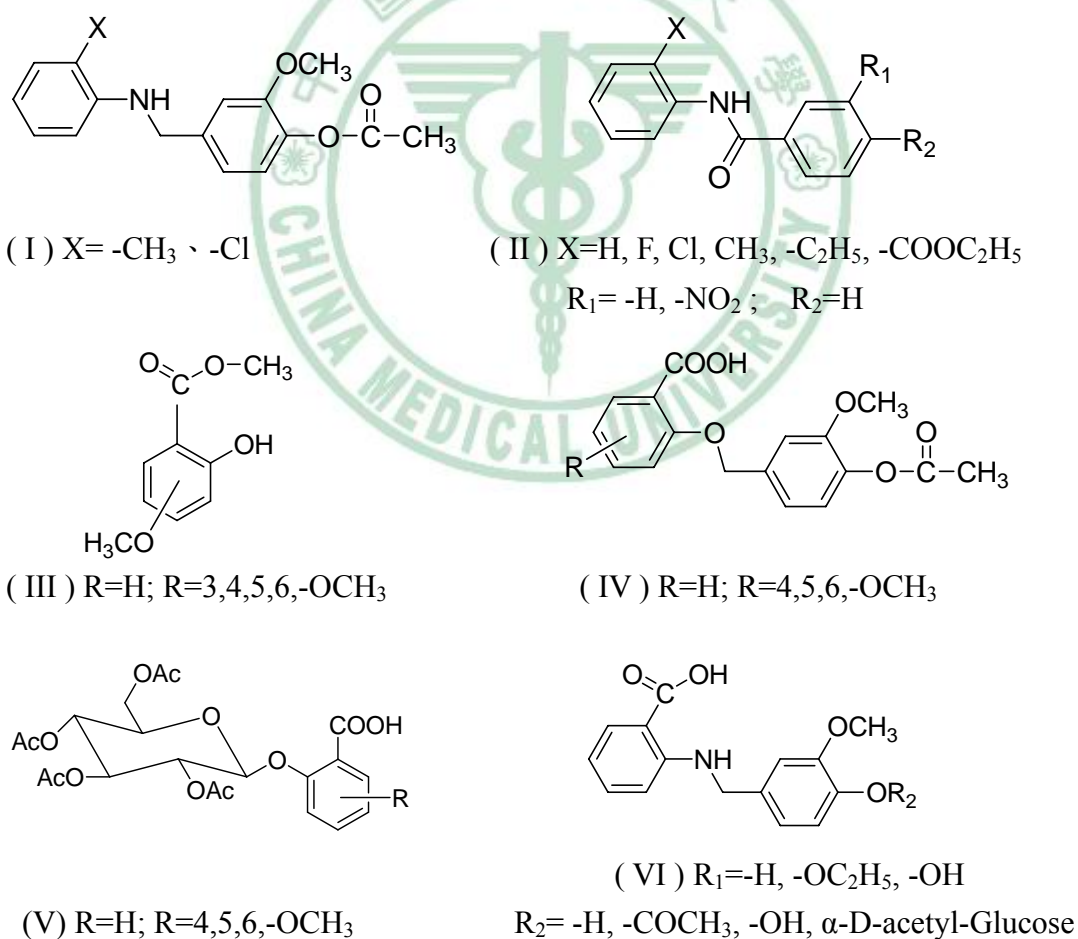


Figure. 14 *N*-取代苄基氨基萘酸衍生物

#### 肆、動物實驗

針對2-[(4-hydroxy benzylamino)] benzoic acid (49)其A環結構上第4位的羥基(-OH)，藉由化學合成方法轉變成O-glycosides，希望可以藉由腸道菌群所分泌的酶(如broad-specific hglucosidase；BS $\beta$ G)將其水解成苷元(aglycone)，再利用小白鼠進行腸毒素下痢測試(patent mouse gut assay)，藉由動物實驗模擬合成分子2-[(3-methoxy benzylamino-4- $\alpha$ -acetyl-Glucose)] benzoic acid口服給藥到達腸腔時被分解成原型分子46，以期表現比投與化合物P、Q、R更佳口服活性。

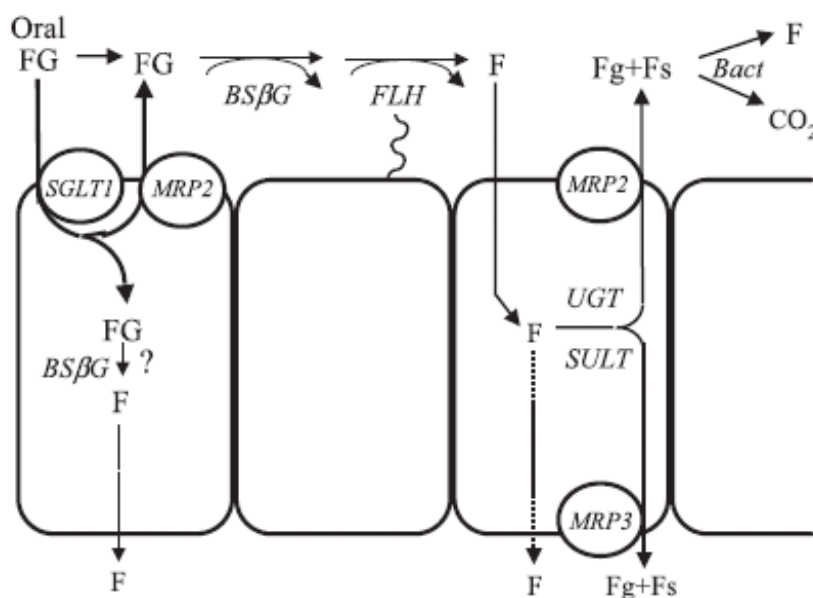
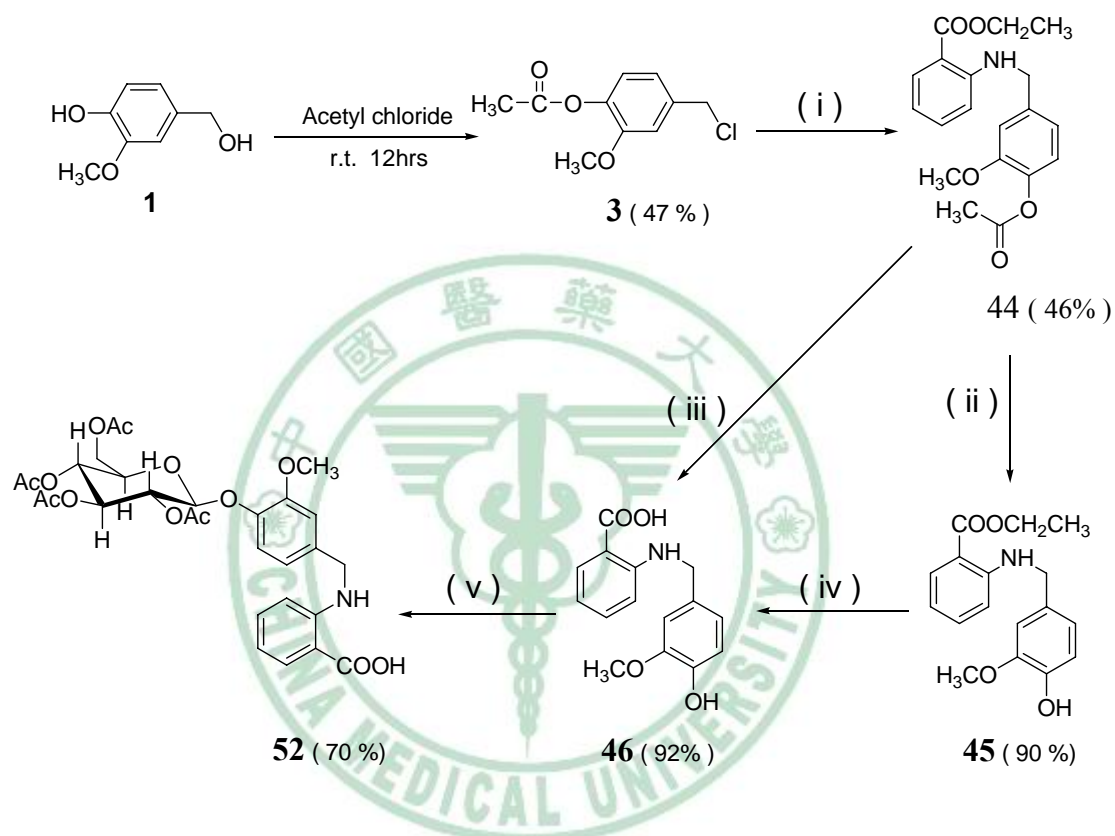


Figure 15. flavonoid glucosides(FG)在腸中的代謝及轉換的路徑<sup>36</sup>

### 第三章 結果與討論

本研究合成了標的化合物 44、45、46，其合成途徑如 Scheme 9 所示，茲於此，分別以化合物為例，說明其合方法及結構解析或反應條件與機轉之探討。

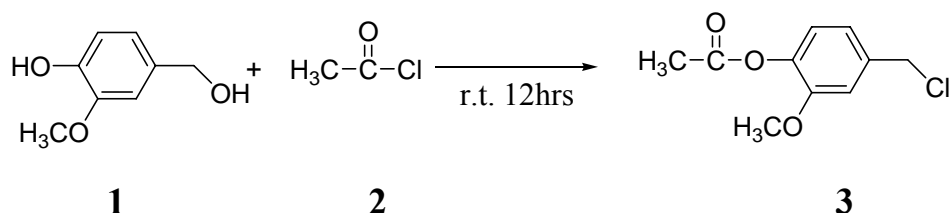


Scheme 9 標的化合物 (VI) 的合成路徑

- ethyl anthranilate.,  $K_2CO_3$  and KI in DMF, rt, 2hrs
- NaOH (2g in 5ml) and ethanol 20 ml; ;add 5% HCl to pH 6-7;
- NaOH (4g in 50 ml) in ethanol 20 ml; refluxing, 30mins; add 5% HCl to pH 6-7
- NaOH (4g in 50 ml) in methanol 20 ml, refluxing, 6hrs; ; add 5% HCl to pH 6-7
- Acetobromo- $\alpha$ -D- glucose.,  $K_2CO_3$  and KI in DMF, r.t.

## 第一節 化學合成

壹、 4-Acetoxy-3-methoxy benzyl chloride (3)合成<sup>39</sup>，如 Scheme 10。



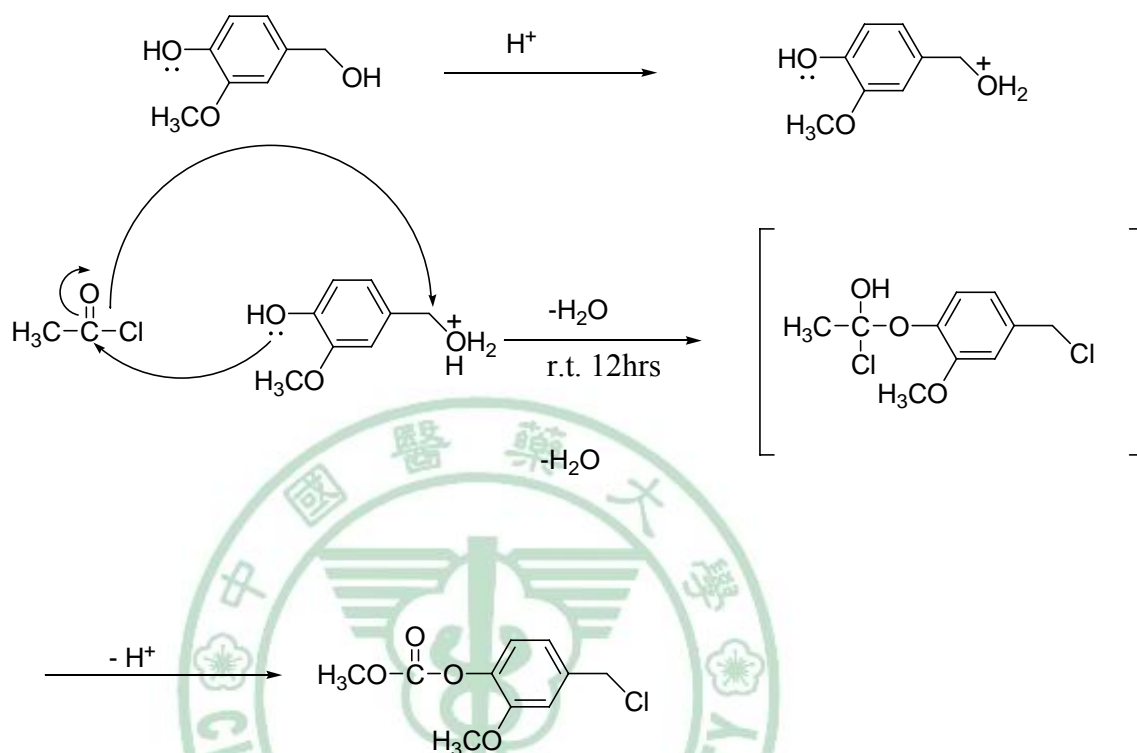
Scheme 10

稱取褐色粉末 4-Hydroxy-3-methoxy benzyl alcohol 100g (0.648 Mole)(1)，以少量多次的方式加入液狀的氯化乙醯(2) 500 ml (6.48 Mole)的圓底瓶(1000ml)內，強力攪拌 60 分鐘，反應液由褐色懸浮液轉墨綠至黑色溶液，產生氯化氫氣體的放熱過程中維持 5-10°C。室溫，攪拌 10-12 小時後，停止反應。減壓濃縮除去過量的氯化乙醯，得深褐色液體。反應液加入二氯甲烷 100 ml 以防止固化，振搖 5 分鐘。冰浴，慢慢加入飽和的碳酸氫鈉水溶液以中和反應過程中生成的氯化氫及醋酸，隨之振搖，待二氧化碳完全生成，不再冒泡，倒入分液漏斗，去除水層，最後以蒸餾水洗數次以除去殘餘的碳酸氫鈉，最後取二氯甲烷層，減壓濃縮，得褐色粗反應液，靜置，固體析出。以正己烷做再結晶，白色針狀結晶析出，過濾，取濾質，乾燥得 101.7 克，產率 47.3 %。熔點 44-45 °C。根據文獻提及此法的產率約在 40-57 %之間。文獻中也提及 benzyl aldehyde 轉成 benzyl alcohol 的方法。



Scheme 11, 推測 4-Hydroxy-3-methoxy benzyl alcohol 進行氯化及乙醯

化可能的反應機轉。



Scheme 11 推測化合物 1 進行氯化及乙醯化反應的機轉

此法的優點是在於 acetyl chloride 適合於多羥基酚的苯甲醇類的同時進行乙醯化及氯化反應。一般而言，多羥基酚的苯甲醇類化合物是結構中同時具有酚性羥基與醇性羥基的分子，通常在鹼性存在下，酚性的羥基會對親核劑(例如 benzyl chloride or benzoyl chloride)，進行自行的取代反應，反而造成標的產物的改變與產率的下降，為避免此一阻礙，最好的解決方法就是將其酚性羥基先予以保護，接著完成親

核性取代後，再將之水解，還原得到酚性羥團。

化合物 3 之構造決定，以其物理及結構鑑定的數據，提出說明：

此化合物為透明針狀結晶；熔點 44-45°C。

質譜(EIMS；70ev； $m/z$ ) (圖 3-1).

- 分子離子峰( $m/z$  214,  $M^+$ )符合結構分子式  $C_{10}H_{11}ClO_3$  的分子量。
- 母峰的峰線( $M$ ) / ( $M + 2$ ) = 3 : 1 或  $m/e$  ( $M+2$ ) 的峰線之強度約為母峰強度(高度)的 1/3，為單氯化物的特性。
- 基峰 ( $m/z$  43.2,  $M^+$ ;  $CH_3C \equiv O^+$ ; 100%)。
- 離子峰( $m/z$  172.1,  $M^+$ ) 之峰線為 Acetoxy group 之斷裂。
- 離子峰( $m/z$  174.1,  $M^+$ )之峰線為 Acetoxy group 的同位素峰，所以其峰線強度為 172 的 1/3 高度。

紫外光譜(UV)  $\lambda_{max}(CH_3OH)nm(\log \epsilon)$ ，其最大的吸收在 332(3.97)

紅外光譜(IR) (圖 3-2)，測定濃度為檢品 / 溴化鉀(KBr) 1 : 100。

有 1 支強且尖銳的  $1745cm^{-1}$  峰線歸屬於酯類的羰基的吸收。

$^1H-NMR(DMSO-d_6, 200MHz) \delta$  (ppm) 圖譜(圖 3-3)：

由積分值顯示此化合物有 11 個質子訊號。 $\delta$  2.249 (3H, *s*) 歸屬於甲氧基的訊號； $\delta$  3.777 (3H, *s*) 歸屬於乙醯基上甲基的訊號； $\delta$  4.740 (2H, *s*) 歸屬於苄基上的亞甲基的訊號； $\delta$  7.03 (3H, *m*) 歸屬於芳香環上的 3 個氫的訊號。

$^{13}\text{C-NMR}(\text{DMSO-}d_6, 200\text{MHz}) \delta (\text{ppm})$  (圖 3-4) :

由積分值顯示有 10 支訊號，由分子式得知有 10 個碳，推測並無重疊的碳訊號，每個訊號皆代表一個碳。屬於高陰電性 OR 及 XR 的訊號，其化學位移落在 40-80 間有 2 支，與圖譜相符；另乙醯基的甲氧基化學位移訊號應落在 20-30,亦與圖譜相符；乙醯基的羰基應出現在 165-175 之間，與圖譜相符。根據碳譜應無誤。

綜合上述光譜數據分析，足以判定 4-Acetoxy-3- methoxy benzyl chloride (3) 為預期之結構。

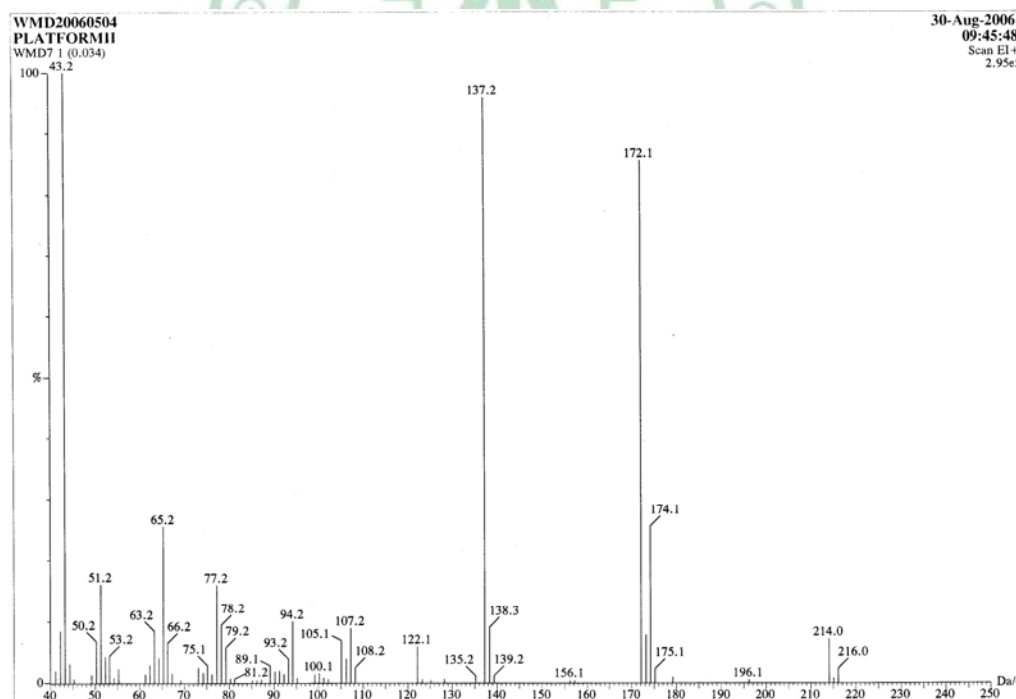


圖 3-1 MS ( EIMS ) spectrum of compound 3

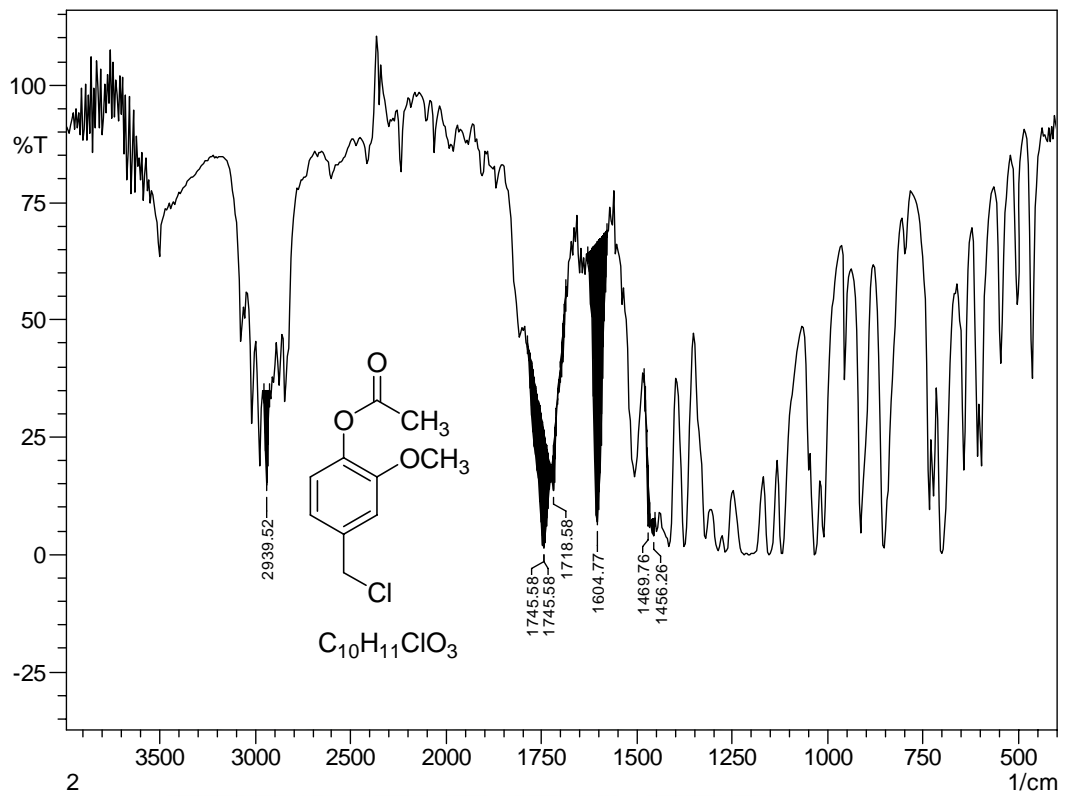


圖 3-2 IR (KBr ) spectrum of compound 3

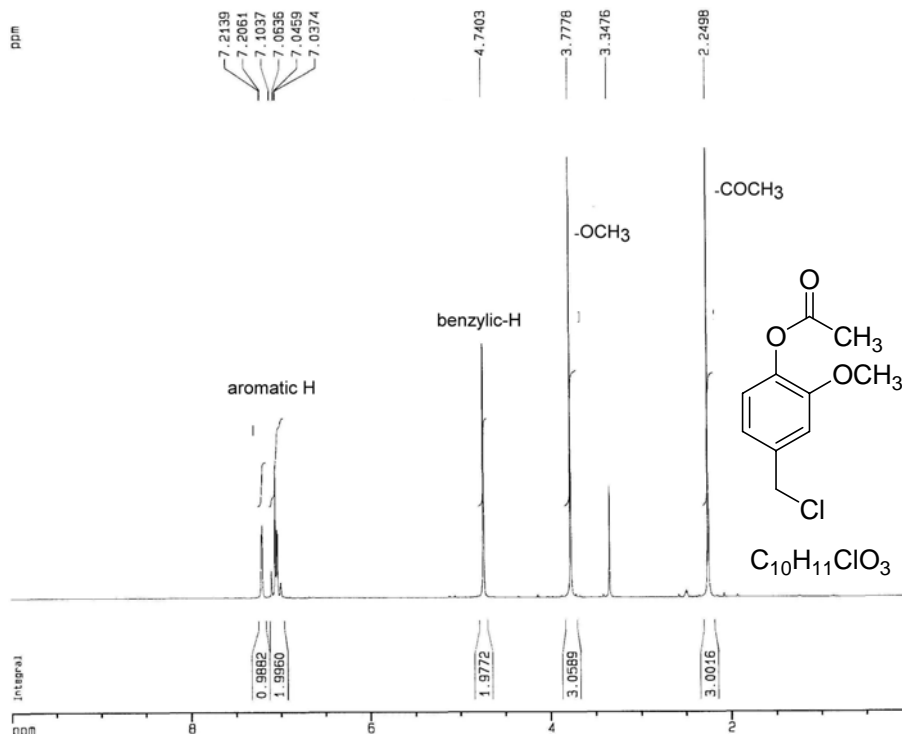


圖 3-3  $^1H$ -NMR (DMSO-  $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 3

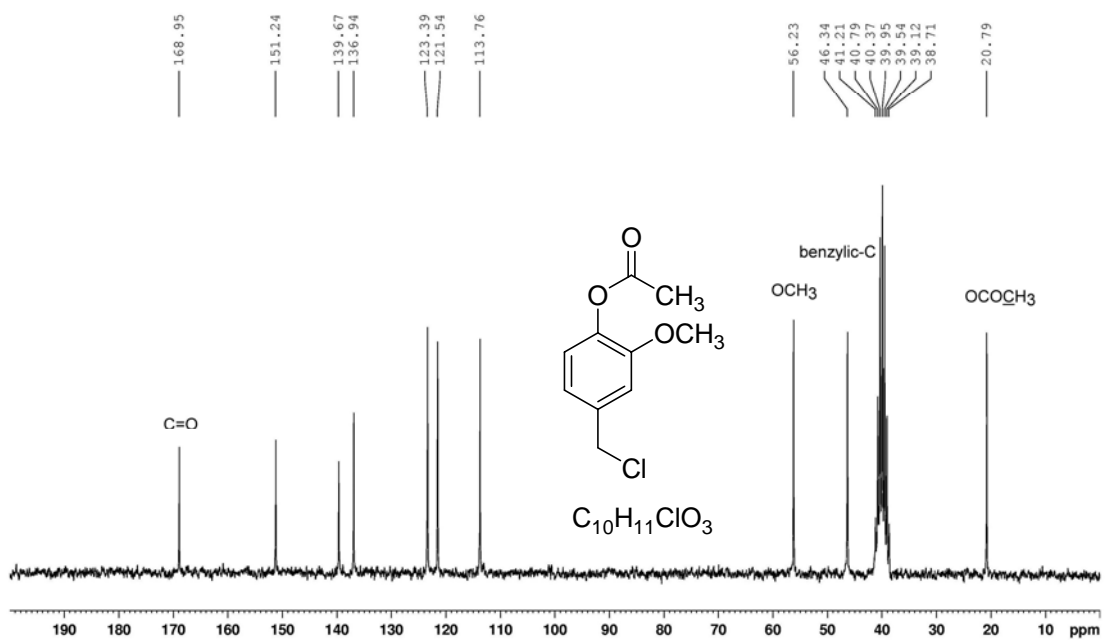


圖 3-4  $^{13}C$ -NMR (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 3

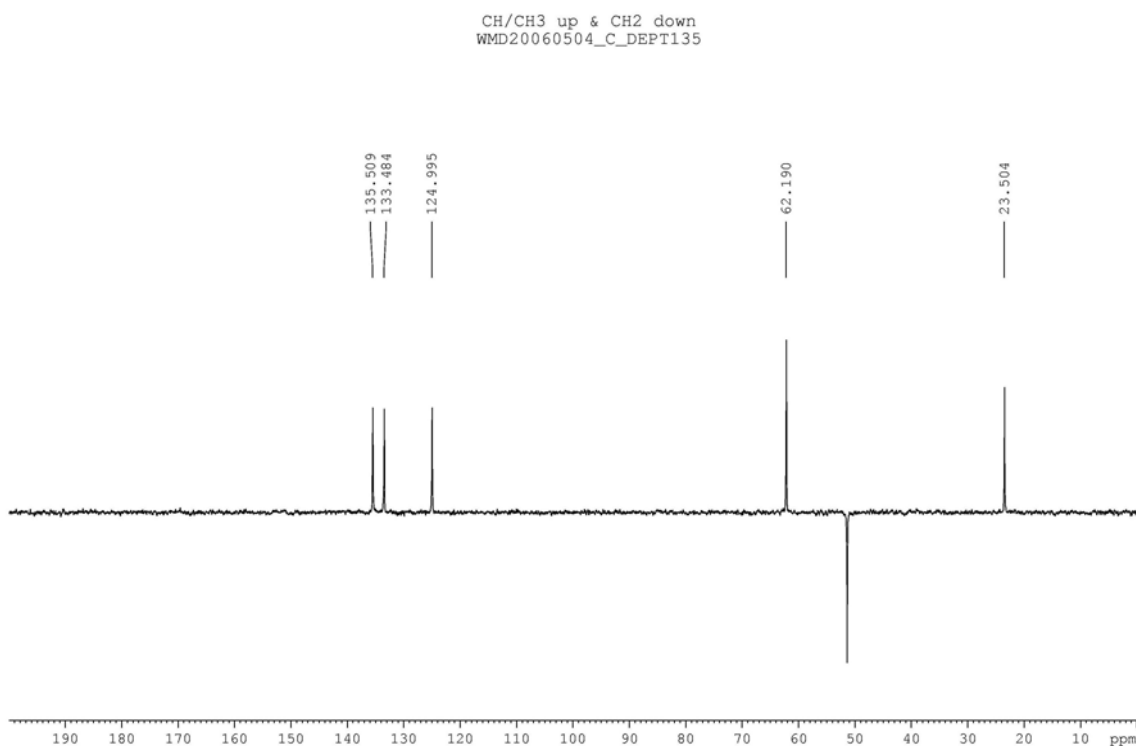
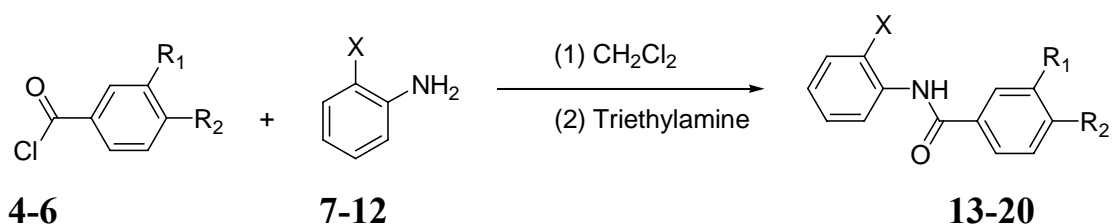


圖 3-5  $^{13}C$ -DEPT 135 (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 3

貳、 2-substituted Phenylbenzamides 之合成法，如 Scheme 12 所示。



4 : R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> =H	7 : X= H	13 : X= H, R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> =H
5 : R <sub>1</sub> = NO <sub>2</sub> , R <sub>2</sub> =H	8 : X= F	14 : X= F, R <sub>1</sub> = NO <sub>2</sub> , R <sub>2</sub> =H
6 : R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = OCH <sub>3</sub>	9 : X= CH <sub>3</sub>	15 : X= CH <sub>3</sub> , R <sub>1</sub> = NO <sub>2</sub> , R <sub>2</sub> =H
	10 : X= C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	16 : X= C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> , R <sub>1</sub> = NO <sub>2</sub> , R <sub>2</sub> =H
	11 : X= OCH <sub>3</sub>	17 : X= OCH <sub>3</sub> , R <sub>1</sub> = NO <sub>2</sub> , R <sub>2</sub> =H
	12 : X= COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	18 : X= COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> , R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> =H
		19 : X= COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> , R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = OCH <sub>3</sub>
		20 : X= COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> , R <sub>1</sub> = NO <sub>2</sub> , R <sub>2</sub> =H

Scheme 12

室溫，稱取液體 2-substituted aniline (7-12) 0.01Mole 溶於含二氯甲烷，加入液體 3-nitro benzoyl chloride(4-6) 0.005Mole，以磁石攪拌 10 分鐘，白色沉澱析出，繼續攪拌 2 小時，待其反應完全，取出磁石，加入澄明液體三乙基胺 (Triethylamine ; C<sub>6</sub>H<sub>15</sub>N ; 0.005Mole ; 101.90g/mole )，靜置 24-48 小時，待二氯甲烷慢慢揮發至透明針狀結晶析出，過濾，丙酮洗之，取白色針狀濾質，得到相對應之化合物 (13-20)。

此類化合物之合成方法，苯胺類(aniline)與醯氯(benzoyl chloride)進行親核性取代反應非常快速，瞬間或約 30 分鐘會產生白色沉澱。在此筆者在反應完成後，才加入三乙基胺 (Triethylamine)的目的是為

方便觀察反應進行，使反應液由沉澱轉成澄明溶液；而一般的做法是將三乙基胺直接混合反應，使其成澄明溶液，見不到沉澱物的產生。進行本反應時，發現使用低沸點溶媒的優點是易處理且易做再結晶，例如甲苯(適合非極性反應物；沸點 110°C)、二氯甲烷(沸點 64°C)、四氫呋喃(適合極性反應物；沸點 66°C)；若是使用高沸點溶媒(沸點 153°C)，則不易處理，例如 DMF。

此類化合物構造決定，以 N-(2-methoxyphenyl)-3-nitrobenzamide (17) 為代表：

此化合物為黃色透明針狀結晶；熔點 137-138°C。

UV： $\lambda_{\max}$  (CH<sub>3</sub>OH)nm(log  $\epsilon$ )：最大吸收在 255(3.87)。

質譜(EIMS；70eV； $m/z$ )(圖 17-1)：

分子離子峰( $m/z$  271.9,  $M^+$ )符合結構分子式 C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 的分子量。

紅外光譜(IR) (圖 17-2)，測定濃度為檢品／溴化鉀(KBr) 1：100。

1640 cm<sup>-1</sup>(s)的強且尖銳吸收峰歸屬於羰基(C=O)的吸收。

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 200MHz)  $\delta$  (ppm) 圖譜(圖 17-3)：

其積分值顯示此化合物有 12 個質子訊號。而由其化學位移、偶合情形，將各個質子訊號歸屬如下：

在最高磁場  $\delta$  3.791 (3H, s) 歸屬為

methoxy group 之訊號； $\delta$  9.91 (1H, s) 歸屬為-CONH-之 NH 訊號；

$\delta$  8.738 - 6.939 有 8 個氫，歸屬為芳香環上的氫。

$^{13}\text{C-NMR}(\text{DMSO-}d_6, 200\text{MHz}) \delta$  圖譜 (ppm) (圖 17-4) :

顯示有 14 支訊號, 由分子式得知有 14 個碳, 推測並無重疊的碳訊號, 每個訊號皆代表一個碳。  $\delta$  56.10 為甲氧基之訊號;  $\delta$  163.65 為醯胺之羰基之訊號。

綜合上述光譜數據分析, 足以判定 N-(2-methoxyphenyl)-3-nitrobenzamide.(17) 為預期之結構。





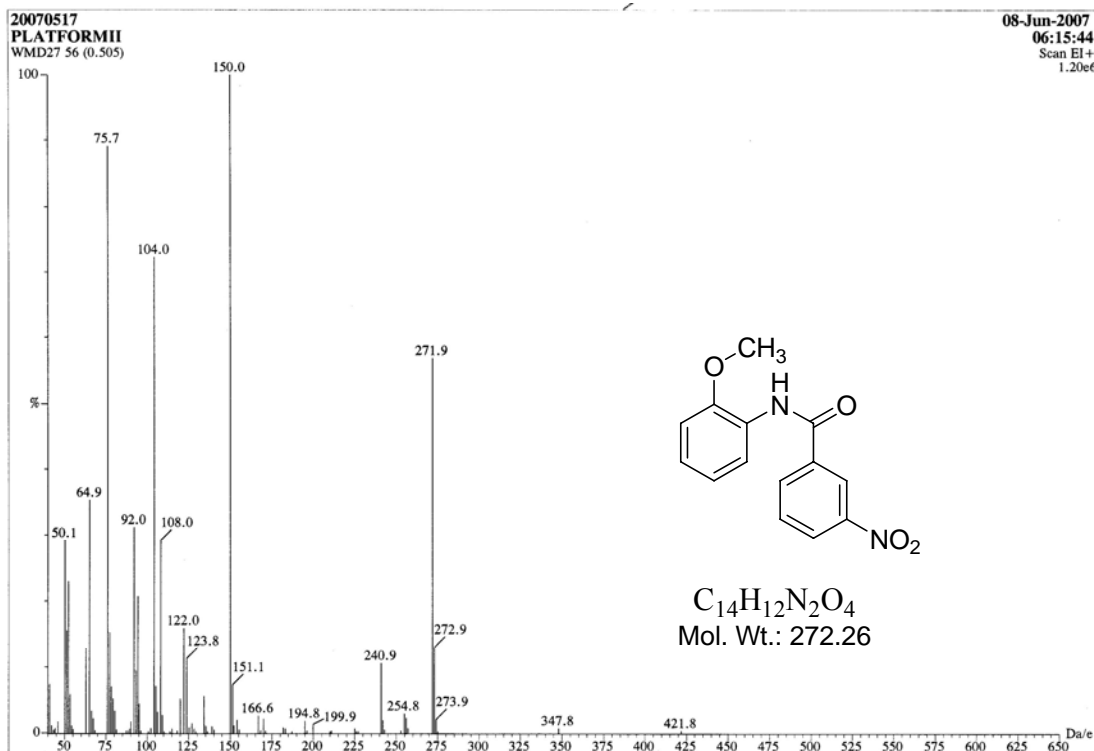


圖 17-1 MS spectrum of compound 17

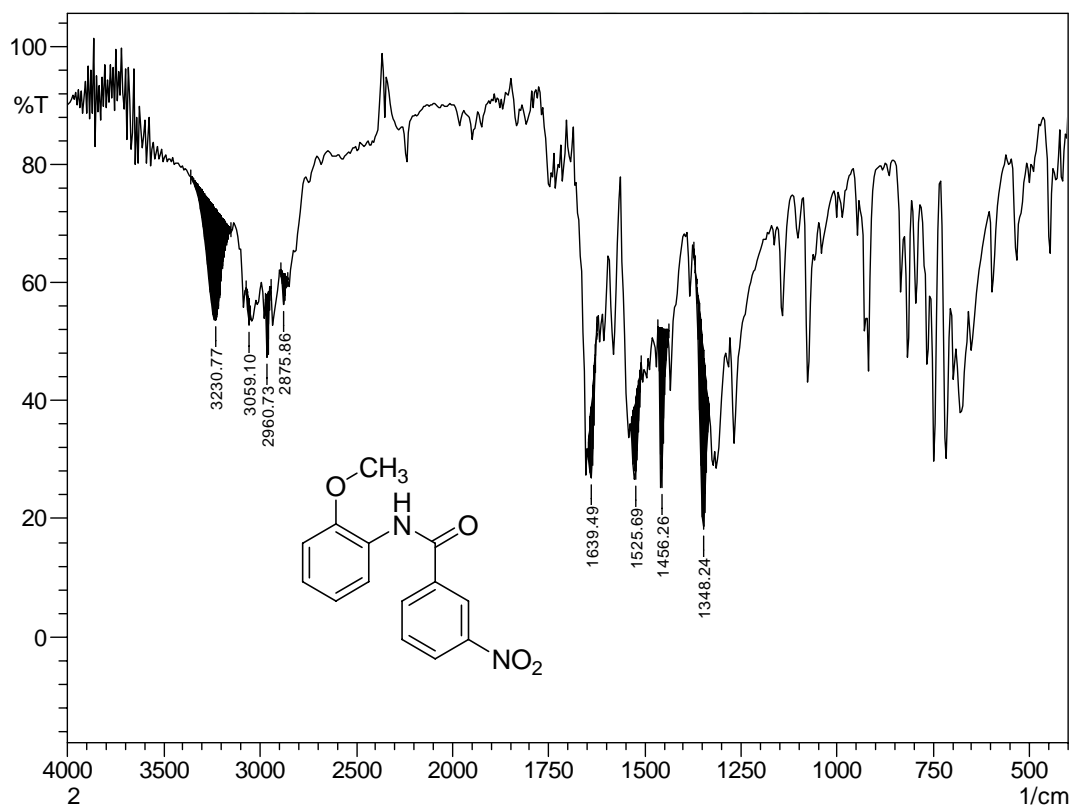
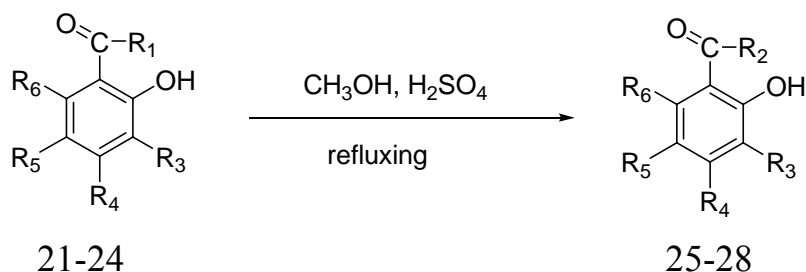


圖 17-2 IR spectrum of compound 17



參、 Methyl substituted baenzoate 此類化合物之合成方法如 Scheme

13 所示。



21 : R<sub>1</sub>= OH, R<sub>3</sub>= OCH<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>= H, R<sub>5</sub>=H, R<sub>6</sub>=H

22 : R<sub>1</sub>= OH, R<sub>3</sub>=H, R<sub>4</sub>= OCH<sub>3</sub>, R<sub>5</sub>=H, R<sub>6</sub>=H

23 : R<sub>1</sub>= OH, R<sub>3</sub>=H, R<sub>4</sub>=H, R<sub>5</sub>= OCH<sub>3</sub>, R<sub>6</sub>=H

24 : R<sub>1</sub>= OH, R<sub>3</sub>=H, R<sub>4</sub>=H, R<sub>5</sub>=H, R<sub>6</sub>= OCH<sub>3</sub>

25 : R<sub>1</sub>= OH, R<sub>3</sub>= OCH<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>= H, R<sub>5</sub>=H, R<sub>6</sub>=H

26 : R<sub>1</sub>= OCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub>=H, R<sub>4</sub>= OCH<sub>3</sub>, R<sub>5</sub>=H, R<sub>6</sub>=H

27 : R<sub>1</sub>= OCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub>=H, R<sub>4</sub>=H, R<sub>5</sub>= OCH<sub>3</sub>, R<sub>6</sub>=H

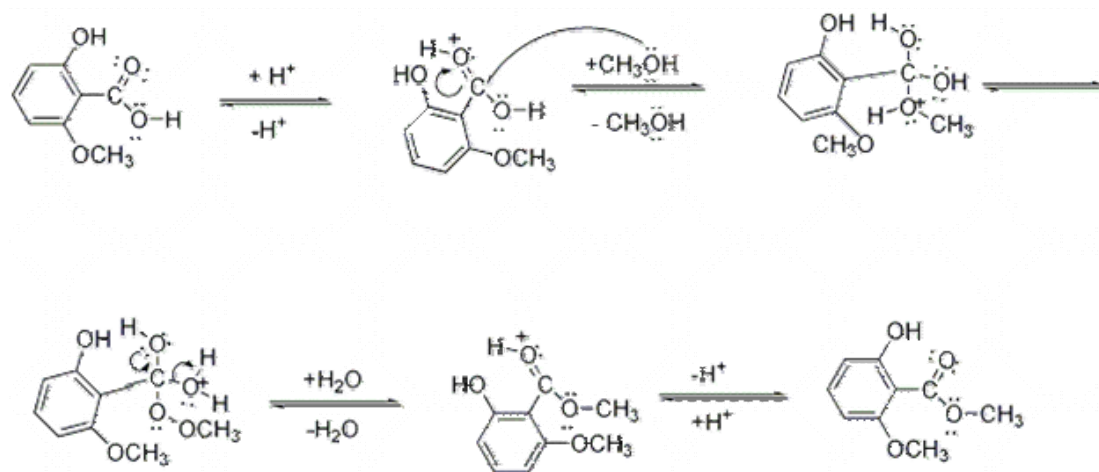
28 : R<sub>1</sub>= OCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub>=H, R<sub>4</sub>=H, R<sub>5</sub>=H, R<sub>6</sub>= OCH<sub>3</sub>

稱取原料 **21-24** 各 0.01mole (C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>, 168.15g/mole) 置於含甲醇 30ml(1 mole)的圓底瓶，加入催化劑濃硫酸 3 毫升(0.3mole)，磁石攪拌，加熱迴流(16-72 小時)，停止反應，靜置、降至室溫。將反應液加入碳酸氫鈉的水溶液以中和硫酸，減壓濃縮。萃取，以二氯甲烷的碳酸氫鈉(5%)水溶液為配對溶媒以除去殘餘的原料水楊酸衍生物，取下層的二氯甲烷層，加入無水硫酸鎂，減壓濃縮，再以乙醇做再結晶，待其析出得相對的化合物 **25-28**。本系列的反應值得注意的事項有三點：(1)反應完全後，將碳酸氫鈉水溶液與之混合，而不直接加以減壓濃縮以去除甲醇，是為避免濃縮時，殘留的濃硫酸對產物酯類的破

壞，所進行的處理。

(2)以 3-methoxy 及 4-methoxy salicylic acid 進行酯化反應。萃取，可以甲醇與正己烷為配對溶媒，取正己烷層，減壓濃縮，可得到純白色的產物。(3) 3-methoxy、4-methoxy、5-methoxy salicylic acid 都可以溶於甲醇；但 6-methoxy salicylic acid 則不容易溶於甲醇，不建議大量製備。此系列的實驗，本研究室的王志文學長有做過，其反應完成後沒有用碳酸氫鈉除去殘餘的有機酸且全部採用管柱層析，但筆者的後續處理過程，直接以萃取或用乙醇做再結晶即可得到純物質。

酸催化的酯化反應，如果沒有催化劑強酸的存在下進行時，反應會進行得很慢。本類反應直接將羧酸與醇在硫酸催化下，製備酯類的方法稱為費雪酯化反應(Fischer esterification)。一般使用較便宜的甲醇或乙醇直接當成溶媒與反應試劑，所以會使用過量的醇，使得反應進行更完全。酸性催化酯化反應的進行機構如 Scheme 14，所述：



Scheme 14 原料 28 進行酯化反應的機轉圖

此類化合物之構造決定，以 Methyl 6-methoxy salicylate (28) 為代表說明如下：

此化合物為透明針狀結晶；熔點 50-51°C。

**質譜(EIMS ; 70ev ;  $m/z$ )(圖 28-1) :**

分子離子峰 ( $m/z$  182.1,  $M^+$ ) 符合結構分子式  $C_9H_{10}O_4$  的分子量。

( $m/z$  150.1,  $M^+$ ) 為其母峰失去甲醇的(M-32)的峰線。

**紅外光譜(IR) (圖 28-2)**，測定濃度為檢品／溴化鉀(KBr) 1 : 100。

峰線  $1687\text{ cm}^{-1}$  歸屬於 C=O 的伸縮振動。

**UV :**  $\lambda_{\text{max}}$  (CH<sub>3</sub>OH)nm(log  $\epsilon$ ) : 最大吸收在 318.5(3.38)。

**<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-  $d_6$ , 200MHz)  $\delta$ (ppm) (圖 28-3) :** 其積分值顯示此化合物有 10 個質子訊號。而由其化學位移、偶合情形，將各個質子訊號歸屬如下：高磁場的  $\delta$  3.71-3.74 積分值為 6 個氫，分別為甲氧基與甲酯之訊號； $\delta$  10.00(1H, s, -OH) 為醇之訊號。 $\delta$  6.45-7.21 為芳香環之訊號。

**<sup>13</sup>C-NMR(DMSO-  $d_6$ , 200MHz)  $\delta$ (ppm) (圖 28-4) :**

圖譜顯示有 9 支訊號，由分子式得知有 9 個碳，推測並無重疊的碳訊號，每個訊號皆代表一個碳。 $\delta$  51.99 為甲酯之碳訊號； $\delta$  55.80 為甲氧基之訊號。 $\delta$  167.02 為甲酯之羰基之訊號。

綜合上述光譜數據分析，足以判定 methyl 6-methoxy salicylate(28) 為預期之結構。

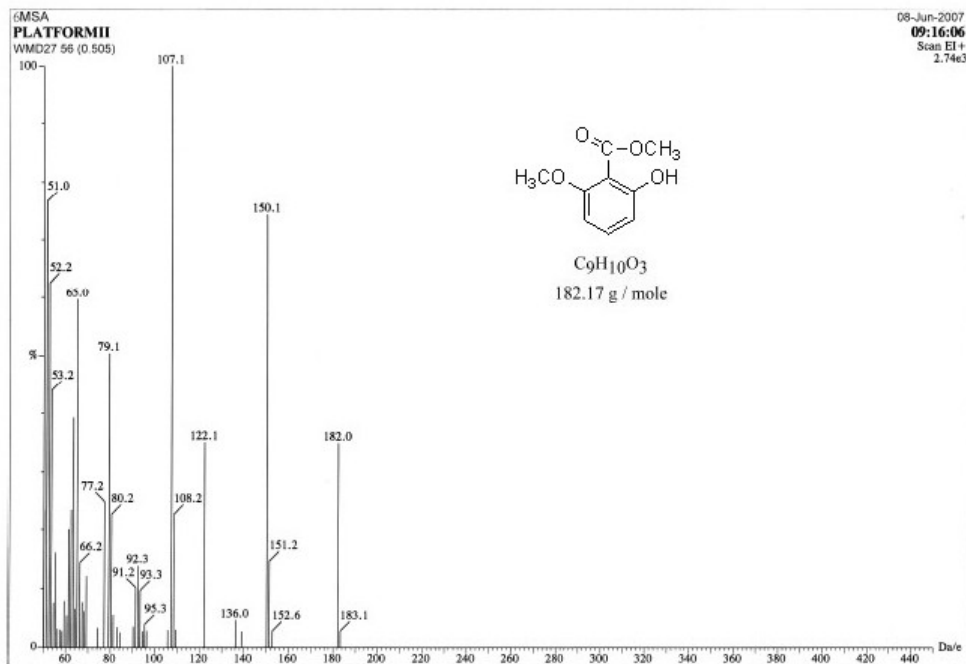


圖 28-1 MS spectrum of compound 28

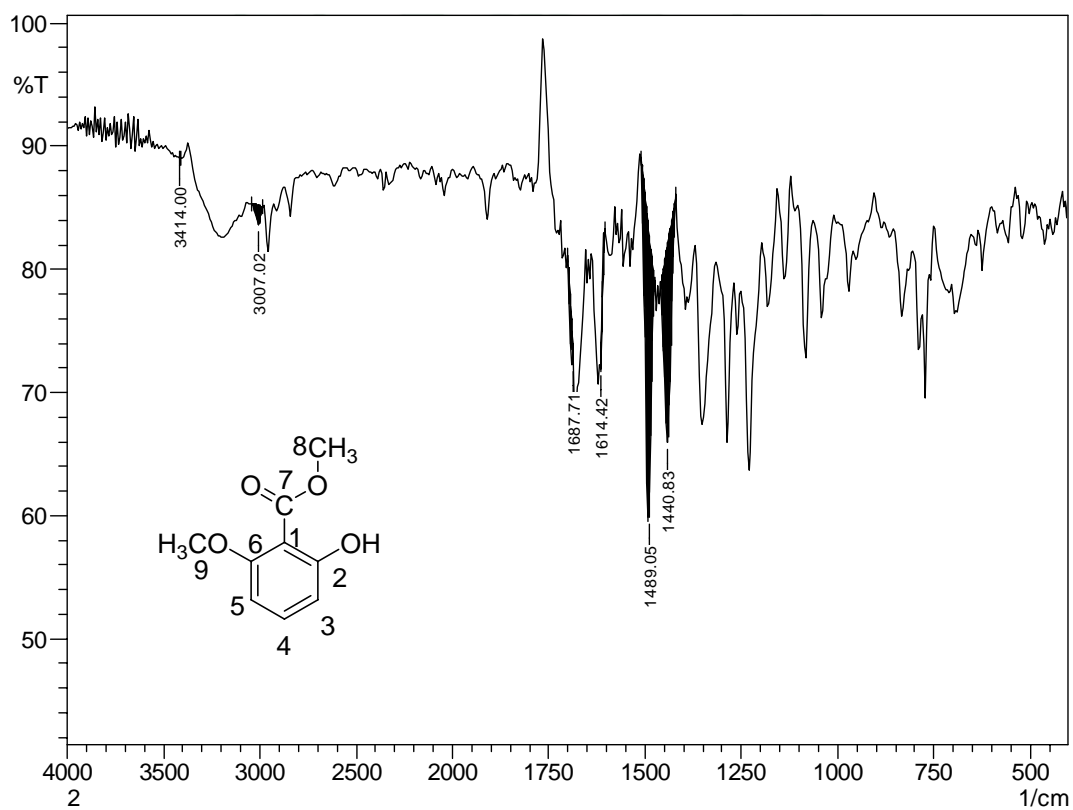


圖 28-2 IR spectrum of compound 28

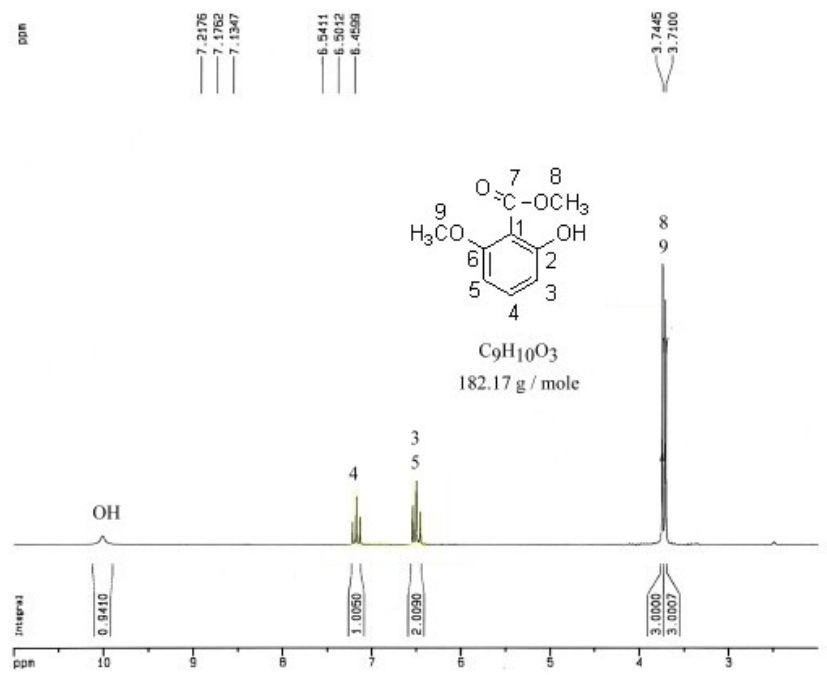


圖 28-3  $^1H$ -NMR (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 28

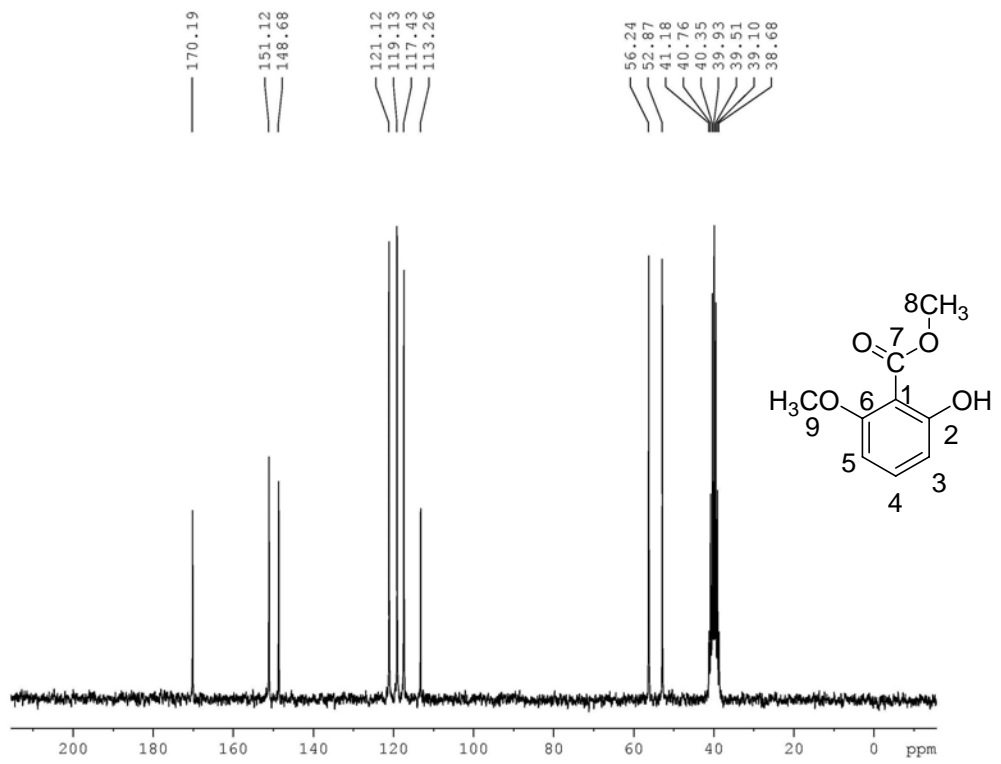
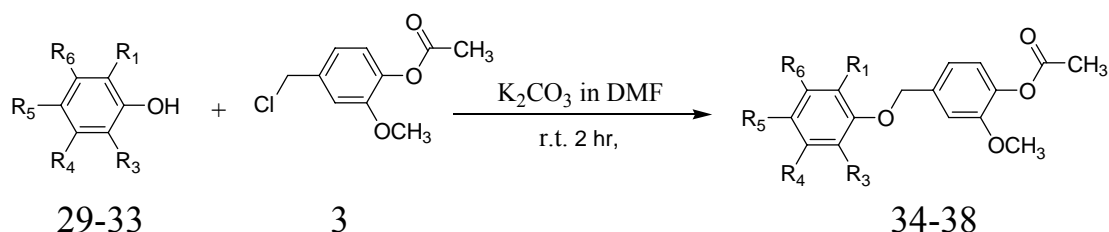


圖 28-4  $^{13}C$ -NMR (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 28

肆、 2-substituted benzyloxybenzoic acid 此類化合物之合成方法如

Scheme 15 所示。



Scheme 15

- 29 : R<sub>1</sub>= COOH, R<sub>3</sub>= H, R<sub>4</sub>=H, R<sub>5</sub>=H, R<sub>6</sub>=H  
30 : R<sub>1</sub>= COOH, R<sub>3</sub>=H, R<sub>4</sub>= OCH<sub>3</sub>, R<sub>5</sub>= H, R<sub>6</sub>=H  
31 : R<sub>1</sub>= COOH, R<sub>3</sub>=H, R<sub>4</sub>= H, R<sub>5</sub>= OCH<sub>3</sub>, R<sub>6</sub>= H  
32 : R<sub>1</sub>= COOH, R<sub>3</sub>= H, R<sub>4</sub>=H, R<sub>5</sub>=H, R<sub>6</sub>= OCH<sub>3</sub>  
33 : R<sub>1</sub>= COOCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub>=H, R<sub>4</sub>= OCH<sub>3</sub>, R<sub>5</sub>=H, R<sub>6</sub>=H  
34 : R<sub>1</sub>= COOH, R<sub>3</sub>=H, R<sub>4</sub>=H, R<sub>5</sub>=H, R<sub>6</sub>= H  
35 : R<sub>1</sub>= COOH, R<sub>3</sub>=H, R<sub>4</sub>= OCH<sub>3</sub>, R<sub>5</sub>=H, R<sub>6</sub>=H  
36 : R<sub>1</sub>= COOH, R<sub>3</sub>=H, R<sub>4</sub>=H, R<sub>5</sub>= OCH<sub>3</sub>, R<sub>6</sub>= H  
37 : R<sub>1</sub>= COOH, R<sub>3</sub>=H, R<sub>4</sub>=H, R<sub>5</sub>=H, R<sub>6</sub>= OCH<sub>3</sub>  
38 : R<sub>1</sub>= COOCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub>=H, R<sub>4</sub>= OCH<sub>3</sub>, R<sub>5</sub>=H, R<sub>6</sub>= H

稱取原料**29-33**各0.01Mole於含二甲醯胺(DMF)的圓底瓶，再加入白色顆粒的無水碳酸鉀1.38克(0.01 Mole；138.21g/mole)、白色顆粒的碘化鉀1.66克(0.01Mole；166.0g/mole)、4-acetoxy-3- methoxy-benzyl chloride 1.07克(0.005 Mole；C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>O<sub>3</sub> 214.65 g/mole)，以磁石攪拌，2小時後停止反應。將反應液倒含冰塊(300ml)的錐形瓶(1000ml)，加入二氯甲烷200ml，振搖後，置於萃取瓶內，取二氯甲烷層，加入無水硫酸鎂，過濾，減壓濃縮。乙醇做再結晶，即可得到相對應的化合物**34-38**。



本反應中，4-acetoxy-3-methoxy-benzyl chloride 只為原料的一半 (0.005 Mole)，其目的在於強迫反應完全，有利用產物的單純化，便於做再結晶；因為產物越多越複雜時，純度越低，越不容易做再結晶。

此類採用 DMF 為溶媒的因素有二 (i) 水楊酸衍生物系列有很高的極性，只能選擇甲醇或乙醇為溶媒。但須考慮醇類對親核試劑 4-acetoxy-3-methoxy benzyl chloride 的破壞力。(ii) 水楊酸衍生物為拔出酚基上的氫質子形成酚氧陰離子(alkoxide)，以進行親核性取代反應，所以選擇了對鹼性試劑碳酸鉀  $K_2CO_3$  有較佳溶解度的非質子溶媒二甲基甲醯胺(DMF)為配對條件。此法的優點是碳酸鉀在 DMF 中的鹼性強於三乙基胺，所以反應速度較快。但缺乏強力的乾式幫浦抽除時，無法除去 DMF (沸點  $153^\circ C$ ) 在使用萃取的方法，通常會使產率下降。一般而言，採用乙醚的水溶液進行 (1:5 至 1:10) 萃取以除去 DMF，但產物與雜質皆會溶於 DMF，會造成產率下降。

此類化合物之構造決定，以化合物(35)為代表說明如下：

此化合物為透明針狀結晶；熔點  $70-71^\circ C$ 。

**質譜(EIMS；70ev； $m/z$ )(圖 35-1)：**

- 分子離子峰 ( $m/z$  346,  $M^+$ ) 符合結構分子式  $C_{18}H_{18}O_7$  的分子量。
- ( $m/z$  43.2,  $M^+$ ；40.57%) 峰線歸屬於  $CH_3C\equiv O^+$ 。
- ( $m/z$  179.2,  $M^+$ ) 與 ( $m/z$  151.2,  $M^+$ ) 峰線歸屬於醚鍵(C-O 鍵)

的兩種方式斷裂方式。

d. ( $m/z$  137,  $M^+$ ; 100%)是由 179 脫去 ketene 而得的峰線。

UV:  $\lambda_{\max}$  (CH<sub>3</sub>OH)nm(log $\epsilon$ ): 261.5(3.81)

紅外光譜(IR) (35-2): 測定濃度為檢品/溴化鉀(KBr) 1:100。

1755 cm<sup>-1</sup> 強的吸收峰線歸屬於羧酸羰基的伸展(C=O)。

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 200MHz) $\delta$ (ppm) (圖 35-3):

其積分值顯示此化合物有 18 個質子訊號。而由其化學位移、偶合情形，將各個質子訊號歸屬如下：在最高磁場的 $\delta$  2.213 歸屬於乙醯基上的甲基訊號； $\delta$  3.747 其積分值為 6 個氫，歸屬為兩個甲氧基之訊號； $\delta$  5.293 歸屬為亞甲基之訊號； $\delta$  10.727 歸屬為羧基之訊號； $\delta$  6.449-7.743 其積分值為 6 個氫，歸屬為芳香環上之氫。

<sup>13</sup>C-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 200MHz)  $\delta$ (ppm) (35-4):

顯示有 18 支訊號，由分子式得知有 18 個碳，推測並無重疊的碳訊號，每個訊號皆代表一個碳。 $\delta$  20.822 歸屬為乙醯基甲基之訊號； $\delta$  56.07-55.23 歸屬於甲氧基之訊號； $\delta$  66.40 為亞甲基之訊號；168.98 及 169.12 歸屬於羧基之訊號。

綜合上述光譜數據分析，足以判定為 4-methoxy 2-[(4-Acetoxy-3-methoxy benzyloxy)benzoic acid (35) 為預期之結構。



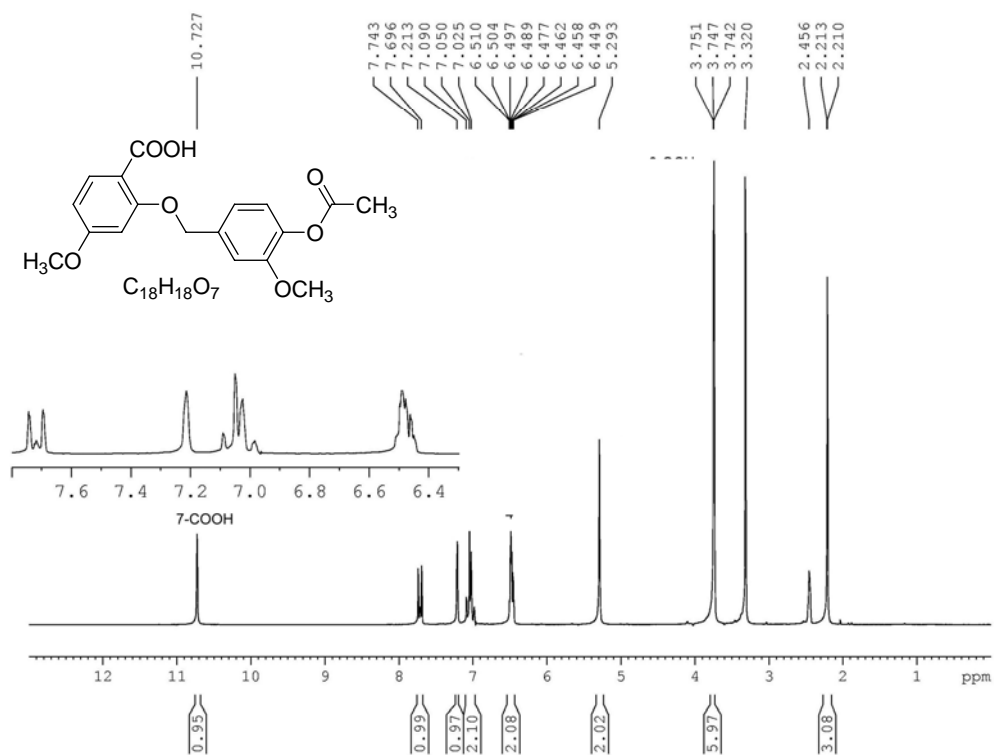


圖 35-3  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 35

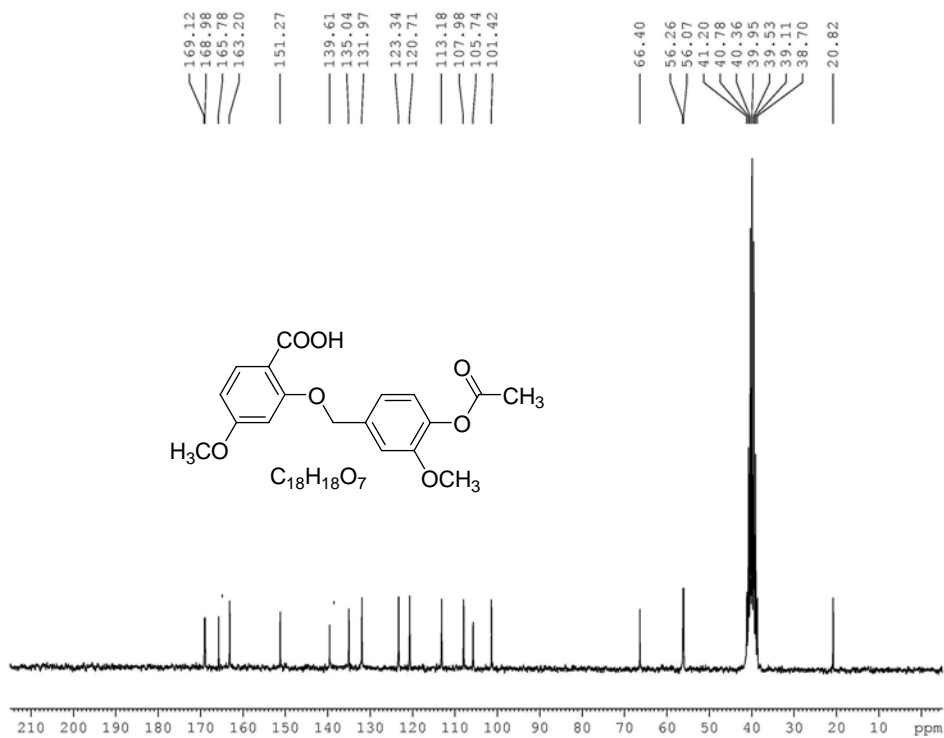
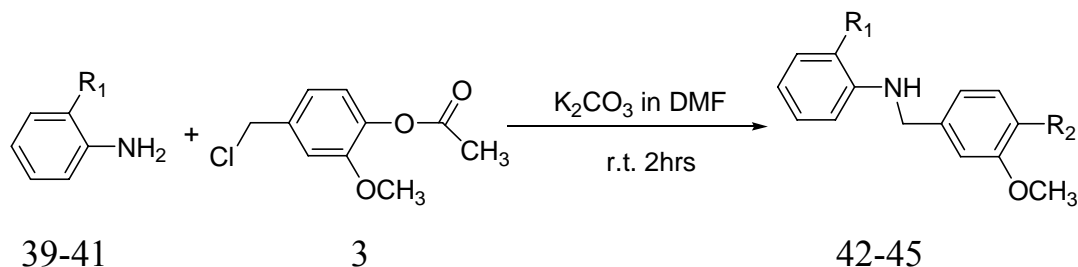


圖 35  $^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 35

伍、 2-substituted benzylaminobenzoic acid 此類化合物之合成方法如

Scheme 16 所示。



Scheme 16

39 :  $R_1=Cl$

40 :  $R_1=CH_3$

41 :  $R_1=COOC_2H_5$

42 :  $R_1=Cl, R_2=OCOCH_3$

43 :  $R_1=CH_3, R_2=OCOCH_3$

44 :  $R_1=OCOCH_3, R_2=OCOCH_3$

45  $R_1=COOC_2H_5, R_2=OH, 46 : R_1=COOH, R_2=OH$  由化合物 44 水解而來。

室溫，稱取澄明液體化合物 **39-41**(0.01 mole)溶於含二氯甲烷 50 毫升的圓底瓶(100ml)，加入液體 4-acetoxy-3-methoxy benzylchloride (**3**) 1.07 克(0.005Mole)，以磁石攪拌 10-30 分鐘有白色沉澱析出，以磁石攪拌 2 小時，停止反應，取出磁石，加入澄明液體三乙胺 0.500 克，使其轉成澄明溶液，靜置 24-48 小時，待二氯甲烷慢慢揮發至透明針狀結晶析出，過濾，丙酮洗之，取白色針狀濾質，得相對應之化合物 **42-44**。

水解反應的進行，稱取化合物 44 為起始原料，以(i)乙醇(20ml)與氫氧化鈉的水溶液 10N(氫氧化鈉 2.0g 溶於蒸餾水 5ml)及(ii)乙醇(20ml)與氫氧化鈉的水溶液 10N(氫氧化鈉 4.0g 溶於蒸餾水 10ml)；加

熱迴流(80°C), 30 分鐘, 減壓濃縮, 去除乙醇。加鹽酸水溶液, 沉澱, 過濾, 取濾質以乙醇做再結晶, 使用條件(i)得化合物 52。使用條件(ii)得化合物 43。此類化合物之構造決定, 以化合物(42)為代表說明如下:  
此化合物為透明針狀結晶; 熔點 77-78°C。

**質譜(EIMS; 70ev;  $m/z$ )(圖 43-1):**

- 分子離子峰( $m/z$  285,  $M^+$ )符合結構分子式  $C_{17}H_{19}NO_3$  的分子量。
- ( $m/z$  43.2,  $M^+$ ; 57.3 %)峰線歸屬於  $CH_3C \equiv O^+$ 。
- ( $m/z$  179.2,  $M^+$ )與( $m/z$  151.2,  $M^+$ )峰線歸屬於醚鍵(C-O 鍵)的兩種方式斷裂方式。
- ( $m/z$  137,  $M^+$ ; 100%)是由 179 脫去 ketene 而得的峰線。

**紅外光譜(IR) (圖 43-2):** 測定濃度為檢品/溴化鉀(KBr) 1:100。

3420  $cm^{-1}$  中等且尖銳的吸收峰(m.s)歸屬於胺類的 N-H 伸縮的吸收。

1750  $cm^{-1}$  歸屬於 C=O 的伸展吸收峰。

**UV:**  $\lambda_{max}$  (CH<sub>3</sub>OH)nm(log  $\epsilon$ ): 最大吸收在 296.8(2.76)。

**<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 200MHz)δ(ppm) 圖譜(圖 43-3):**

其積分值顯示此化合物有 19 個質子訊號。而由其化學位移、偶合情形, 將各個質子訊號歸屬如下: 在最高磁場的δ 2.12 為芳香環上甲基之訊號; δ 2.18 為乙醯基之訊號; δ 3.70 為甲氧基之訊號; δ 4.29 為亞甲基之訊號; δ 5.55-7.11 為芳香環上氫之訊號。

$^{13}\text{C}$ -NMR(DMSO- $d_6$ , 200MHz) $\delta$ (ppm)圖譜(圖 43-4)：顯示有 17 支訊號，由分子式得知有 17 個碳，推測並無重疊的碳訊號，每個訊號皆代表一個碳。 $\delta$  18.23 歸屬於芳香環上甲基之訊號； $\delta$  20.83 歸屬於乙醯基上甲基之訊號； $\delta$  46.69 歸屬於亞甲基之訊號； $\delta$  56.07 歸屬於甲氧基之訊號； $\delta$  169.07 歸屬於羰基之訊號。

綜合上述光譜數據分析，足以判定 2-methyl-(4-acetoxy -3-methoxy benzylamine) benzene (43) 為預期之結構。

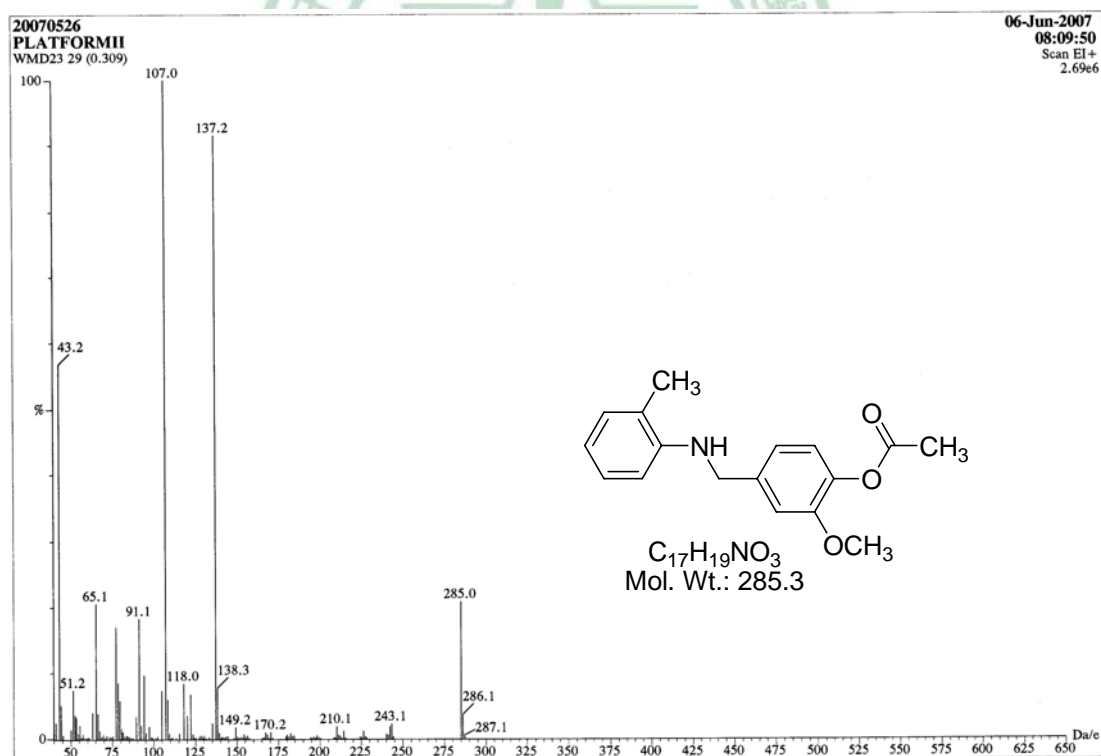


圖 43-1 MASS spectrum of compound 43

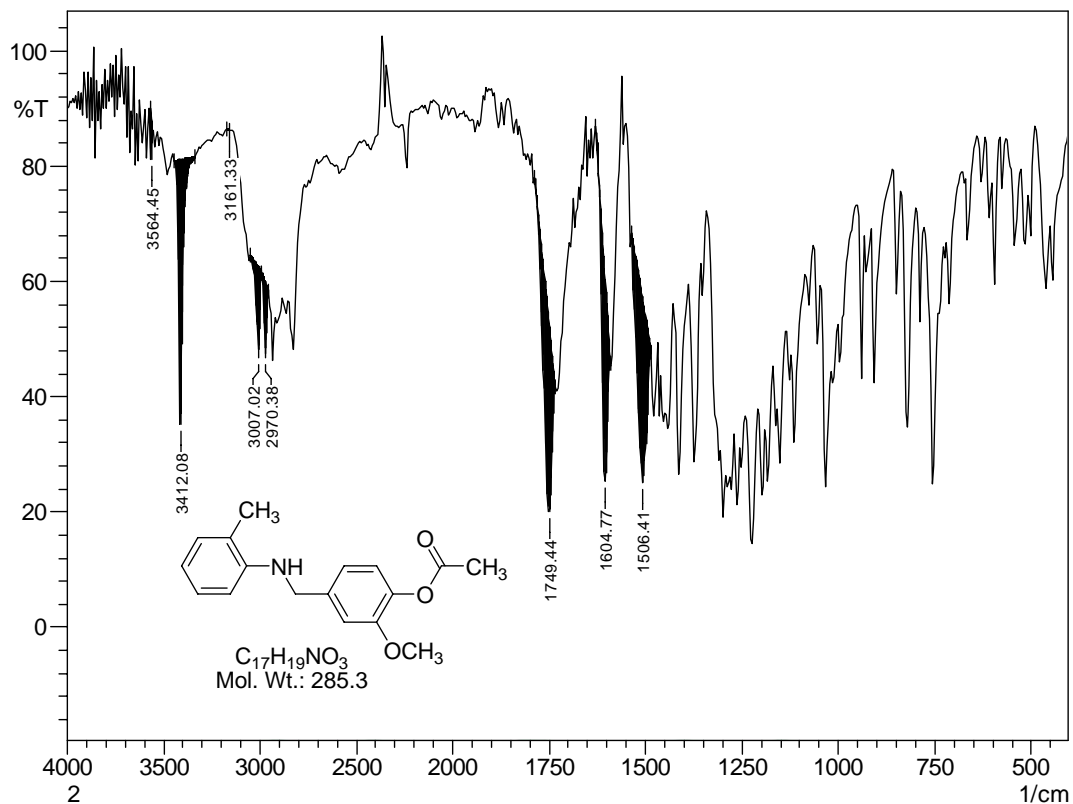


圖 43-2 IR spectrum of compound 43

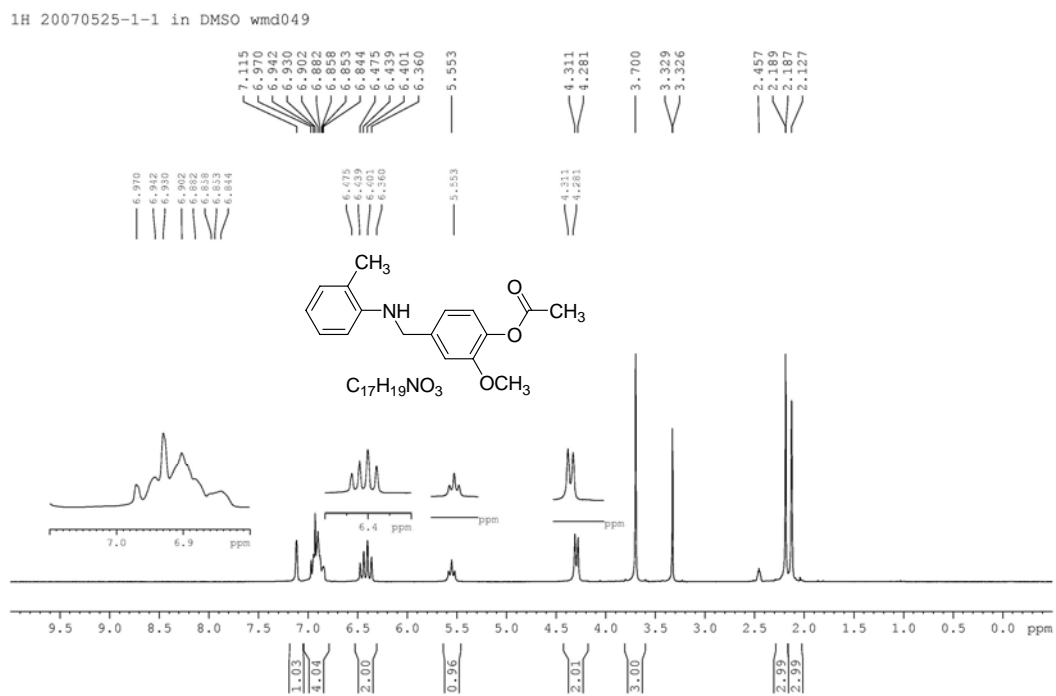


圖 43-3  $^1H$ -NMR (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 43



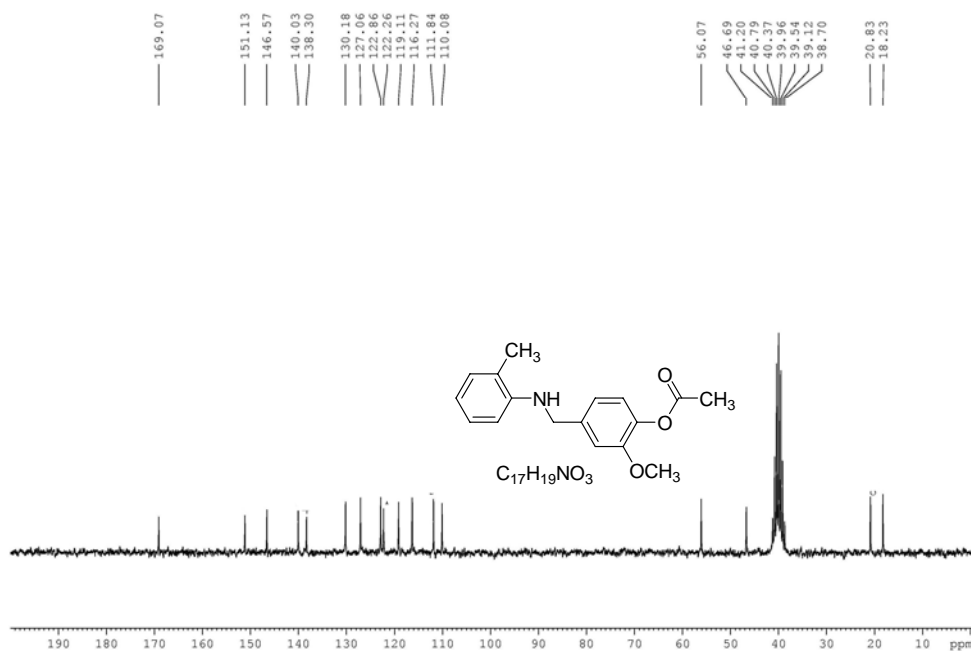
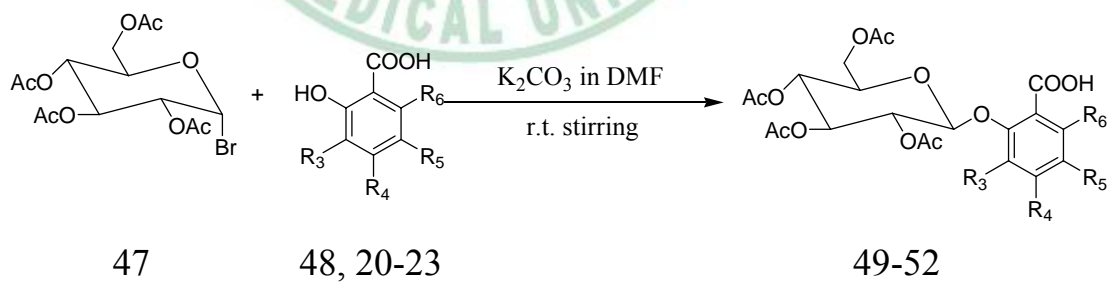


圖 43-4  $^{13}C$ -NMR (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 43

陸、水楊酸的糖化反應(Glucosylation) 此類化合物之合成方法如

Scheme 17 所示。



Scheme 17

**47** :  $R_3 = H, R_4 = H, R_5 = H, R_6 = H$

**21** :  $R_3 = H, R_4 = OCH_3, R_5 = H, R_6 = H$

**22** :  $R_3 = H, R_4 = H, R_5 = OCH_3, R_6 = H$

**23** :  $R_3 = H, R_4 = H, R_5 = H, R_6 = OCH_3$

**49** :  $R_3 = H, R_4 = H, R_5 = H, R_6 = H$

**50** :  $R_3 = H, R_4 = OCH_3, R_5 = H, R_6 = H$

**51** :  $R_3 = H, R_4 = H, R_5 = OCH_3, R_6 = H$

**52** :  $R_3 = H, R_4 = H, R_5 = H, R_6 = OCH_3$

室溫，稱取化合物 **48** 或 **21-23** (0.01Mole) 溶於二甲基甲醯胺(DMF) 25 ml 加入白色顆粒的無水碳酸鉀與無水碘化鉀及 Acetobromo- $\alpha$ -D-glucose (**47**)，磁石攪拌 6 小時，反應完全，加入冰的蒸餾水(200ml)，靜置，沉澱，過濾，取濾質，以正己烷和許乙醇做再結晶，得相對應的化合物 **49-52**。

此類化合物之構造決定，以化合物(**51**)為代表說明如下：

此化合物為透明針狀結晶；熔點 157-157.5°C。

質譜(EIMS；70ev； $m/z$ )(圖 51-1)：

- 分子離子峰( $m/z$  497,  $M^+$ )符合結構分子式  $C_{22}H_{26}O_{13}$  的分子量。
- 本類化合物屬於 Acetyl- $\alpha$ -D-glucoside，糖類分子上具有 4 個乙醯基，通常在質譜上進行脫去醋酸分子是常態，所以可以見到  $m/z$  270.9、210.8、170.2、109.2 等峰線。
- 峰線( $m/z$  168,  $M^+$ ；90.59%；M-330)歸屬水楊酸自由基的斷裂。
- 基峰線( $m/z$  43.1,  $M^+$ ；100%)為歸屬於( $CH_3C \equiv O^+$ )的斷裂。

UV： $\lambda$  max (CH<sub>3</sub>OH)nm(log $\epsilon$ )：最大吸收在 345.5(3.54)。

紅外光譜(IR) (圖 51-2)：測定濃度為檢品／溴化鉀(KBr) 1：100。

1768  $cm^{-1}$  與 1730  $cm^{-1}$  歸屬於 acetoxy group 與羧酸的羰基(C=O)吸收。

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 200MHz) $\delta$ (ppm)圖譜(圖 51-3)：

此化合物經 5-methoxy salicylic acid 與 Acetobromo- $\alpha$ -D-glucose 合成

而來，因此，依照本合成條件，僅需判定產物是否含有 4 個乙醯基積分之訊號，在其積分值顯示此化合物有 11 個質子訊號。 $\delta$  1.773-2.111 間，存在著 12 個氫之乙醯之甲基之訊號。

$^{13}\text{C}$ -NMR(DMSO- $d_6$ , 200MHz) $\delta$ (ppm)圖譜(圖 51-4)：

顯示有 10 支訊號，由分子式得知有 15 個碳，推測並無重疊的碳訊號，每個訊號皆代表一個碳。 $\delta$  20.538 為 4 個乙醯基甲基之訊號。

綜合上述光譜數據分析，足以判定 2-(2-(acetyl-Glucose)-) 5-methoxy benzoic acid (50)，為預期之結構。

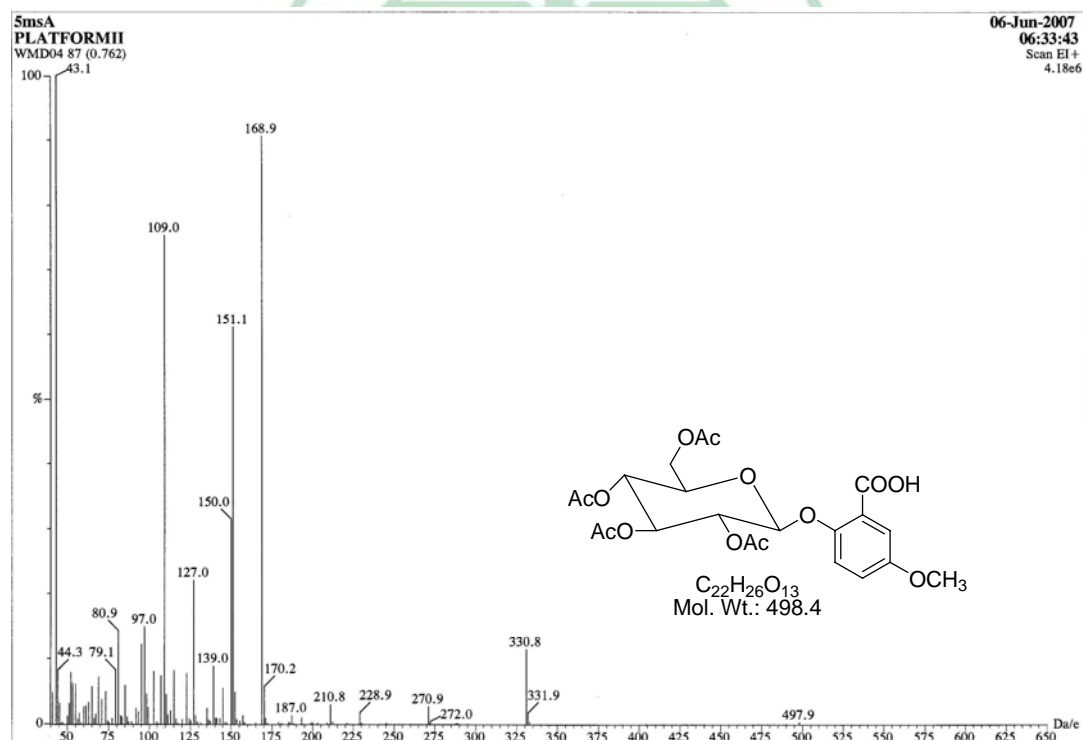


圖 51-1 MASS spectrum of compound 51

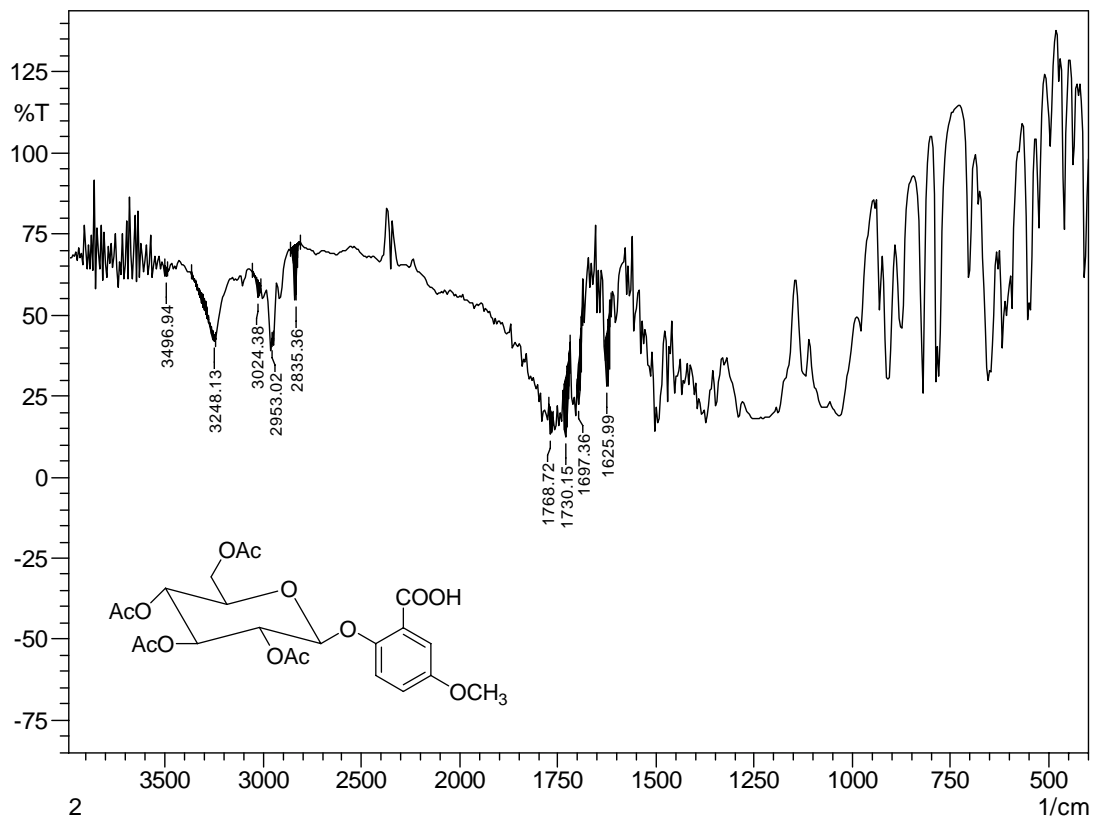


圖 51-2 IR spectrum of compound 51

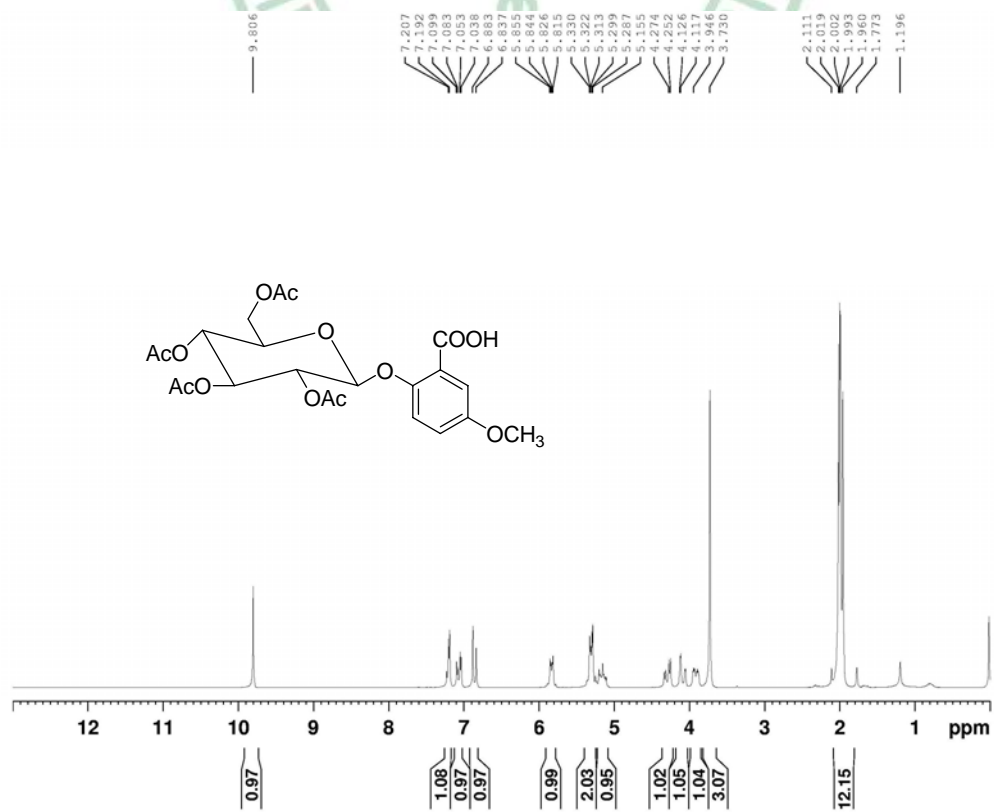


圖 51-3  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 51

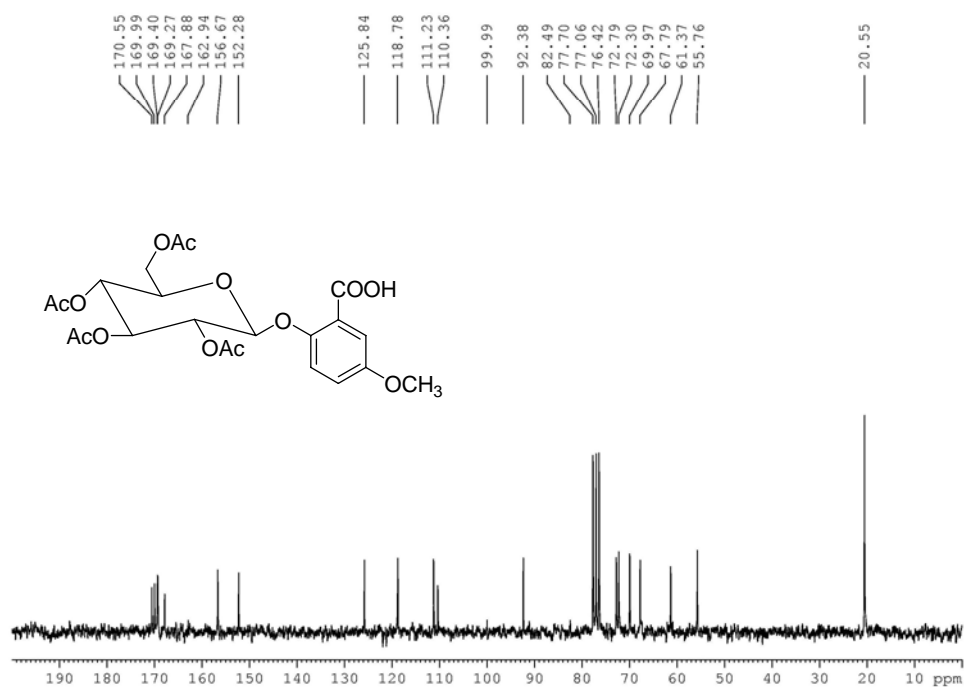


圖 51-4  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 51

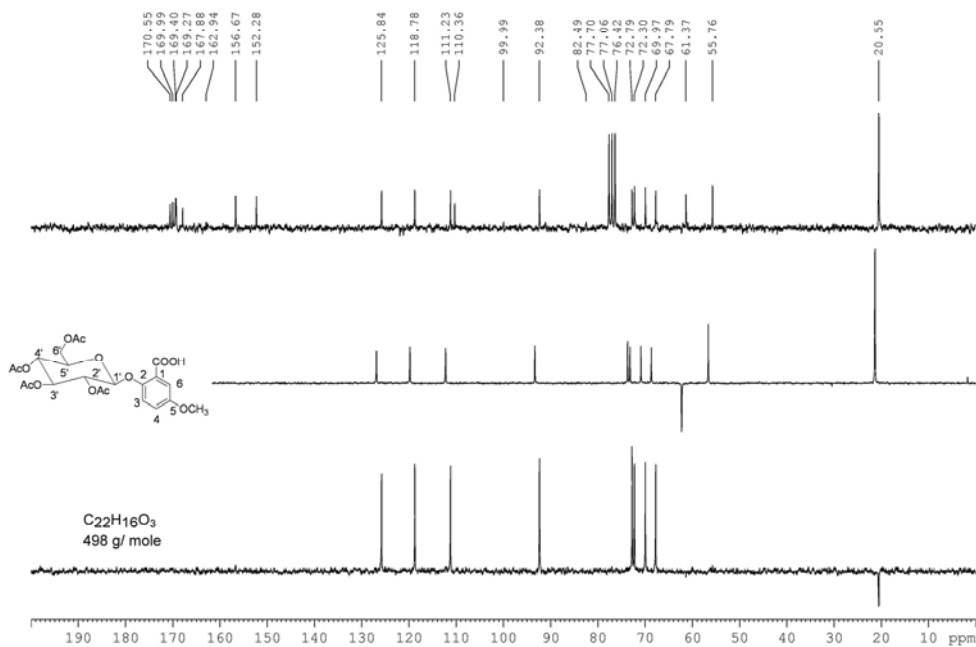
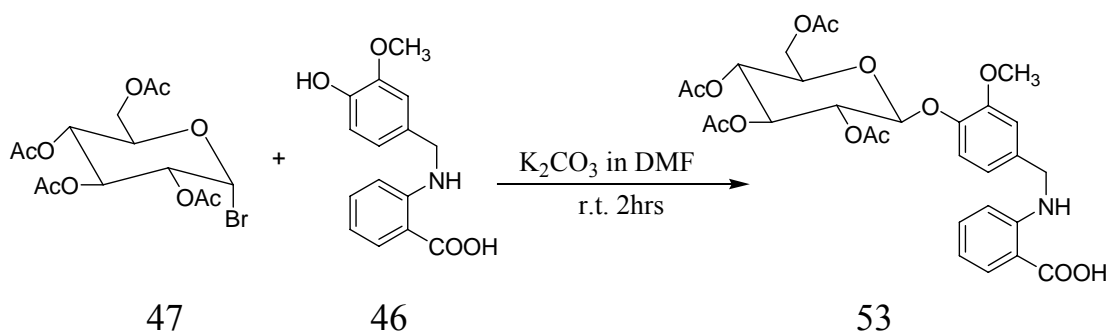


圖 51-5  $^{13}\text{C-DEPT}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 51

柒、 2-[(4-hydroxy-3-methoxy)benzylamino] benzoic acid 的糖化反應

(Glucosylation) 此類化合物之合成方法如 Scheme 18 所示。



Scheme 18

室溫，稱取化合物 49 溶於二甲基甲醯胺(DMF)加入白色顆粒的無水碳酸鉀與白色顆粒的無水碘化鉀及 Acetobromo- $\alpha$ -D- glucose (50)，磁石攪拌 2 小時，反應完全，加入冰的蒸餾水(200ml)，靜置，沉澱，過濾，取濾質，以正己烷(加少許乙醇)做再結晶，得針狀結晶。靜置，析出，過濾，乙醇洗之，取白色針狀濾質，乾燥，稱重 3.34 克，產率 55.38%，得產物 2-[(3-methoxy benzylamino-4-acetyl- Glucose)] benzoic acid ( $C_{29}H_{33}NO_{13}$ ；603.57 g/mole)。熔點 153.6 – 154.2 °C。

此類化合物之構造決定，以化合物(52)為代表說明如下：

此化合物為透明針狀結晶；熔點 153.6-154.2°C。

**質譜(EIMS；70ev； $m/z$ )(圖 53-1)**

- a. 分子離子峰( $m/z$  602.8,  $M^+$ )符合結構分子式  $C_{29}H_{33}NO_{13}$  分子量。
- b. 本類化合物屬於 Acetyl- $\alpha$ -D- glucoside，糖類分子上具有 4 個乙醯

基，通常在質譜上進行脫去醋酸分子(M-60)是常態，所以可以見到  $m/z$  273、211、109 等峰線。

c. 基峰線( $m/z$  43.1,  $M^+$ ; 100%)為歸屬( $CH_3C\equiv O^+$ )峰線的斷裂。

UV:  $\lambda_{max}$  (CH<sub>3</sub>OH)nm(log $\epsilon$ ): 最大吸收在 346.5(3.62)。

紅外光譜(IR) (圖 53-2) : 測定濃度為檢品/溴化鉀(KBr) 1:100。

1730  $cm^{-1}$ 、1693.50  $cm^{-1}$  歸屬 acetoxy group 與羧酸的羰基(C=O)吸收。

紫外光譜(UV): 在 nm 處有最大吸收。

在判定化合物 57 的氫譜與碳譜之前，吾人先將確認化合物 46 的結構，進而推導出化合物的結構。

質譜(EIMS; 70eV;  $m/z$ )(圖 46-1)

峰線( $m/z$  602.8,  $M^+$ ) 歸屬於化合物 46 的分子離子峰。

紅外光譜(IR) (圖 46-2)

3390  $cm^{-1}$  中等且尖銳的吸收峰(m.s)歸屬於胺類的 N-H 伸縮的吸收。

1672  $cm^{-1}$  歸屬於 C=O 的伸展吸收峰。

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 200MHz) $\delta$ (ppm)圖譜(圖 46-3)

其積分值顯示此化合物有 12 個質子訊號。而由其化學位移、偶合情形，將各個質子訊號歸屬如下：在最高磁場的。 $\delta$  3.688 為甲氧基之訊號； $\delta$  4.243 為亞甲基之訊號； $\delta$  6.470- 7.766 為芳香環上的 7 個氫之訊號。

$^{13}\text{C}$ - NMR(DMSO-  $d_6$ , 200MHz) $\delta$ ( ppm )圖譜(圖 46-4) :

顯示有 14 支訊號，由分子式得知有 15 個碳。 $\delta$  46.44 歸屬於亞甲基；

$\delta$  56.02 為甲氧基之訊號； $\delta$  170.43 為羧基之羰基之訊號。

綜合上述光譜數據分析，足以判定化合物 2[(4-hydroxy-3- methoxy ) benzylamino] benzoic acid (46)為預測結構。

化合物 **53** 為化合物 2[(4-hydroxy-3- methoxy ) benzylamino] benzoic acid (46)和 Acetobromo- $\alpha$ -D- glucose (47)合成而來，因此，依據本法之合成條件，僅需檢視圖譜是否含 4 個乙醯基上甲基訊號。

$^1\text{H}$ - NMR(DMSO-  $d_6$ , 200MHz) $\delta$ ( ppm )圖譜(圖 53-3) : 其積分值顯示此化合物有 33 個質子訊號， $\delta$  1.958-2.022 歸屬於 4 個乙醯基上甲基之訊號，共 12 個氫。

$^{13}\text{C}$ - NMR(DMSO-  $d_6$ , 200MHz) $\delta$ ( ppm )圖譜(圖 53-4) :

在 $\delta$  20.57 出現 4 個乙醯基之甲基之訊號。

綜合上述光譜數據分析，足以判定化合物 2-[(3-methoxy benzylamino -4- $\alpha$ -acetyl-Glucose)] benzoic acid (**53**)為預測結構。



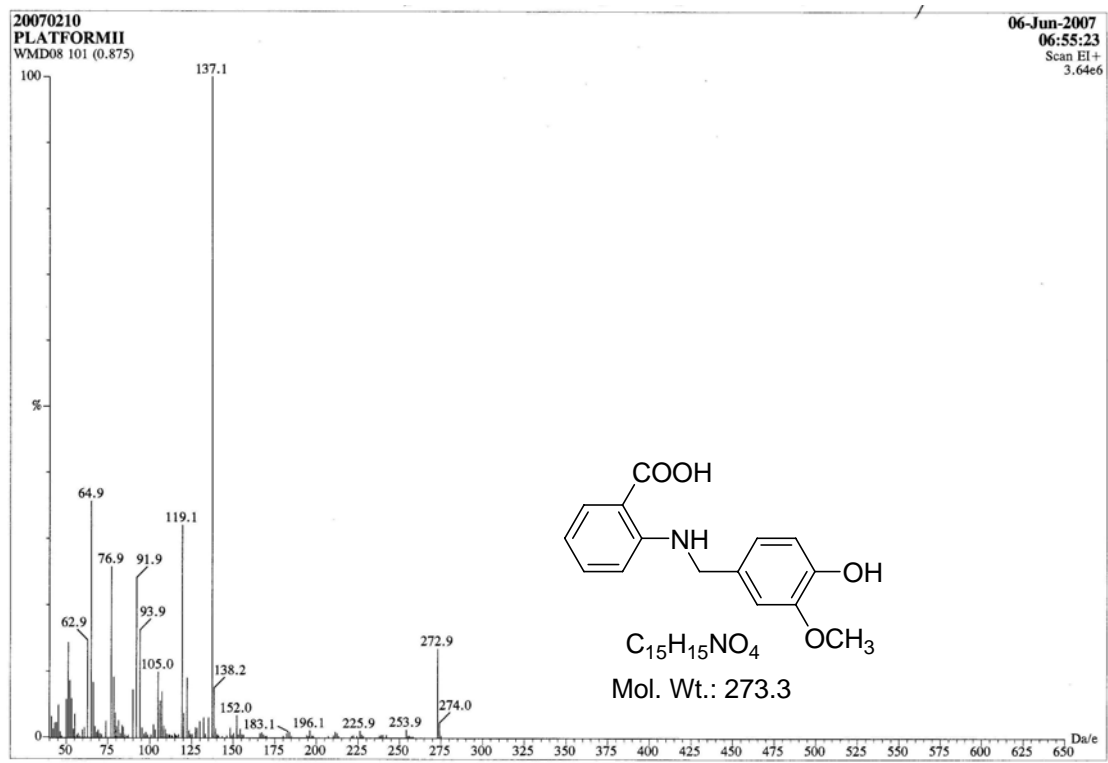


圖 46-1 MASS spectrum of compound 46

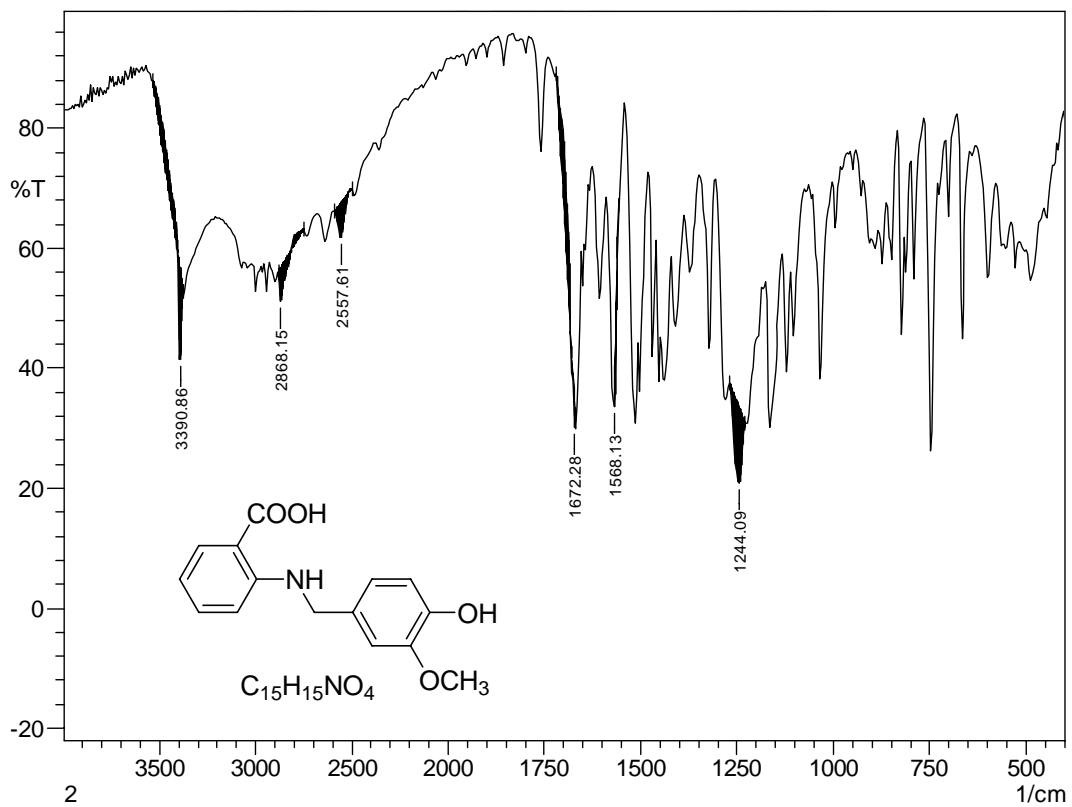


圖 46-2 IR spectrum of compound 46

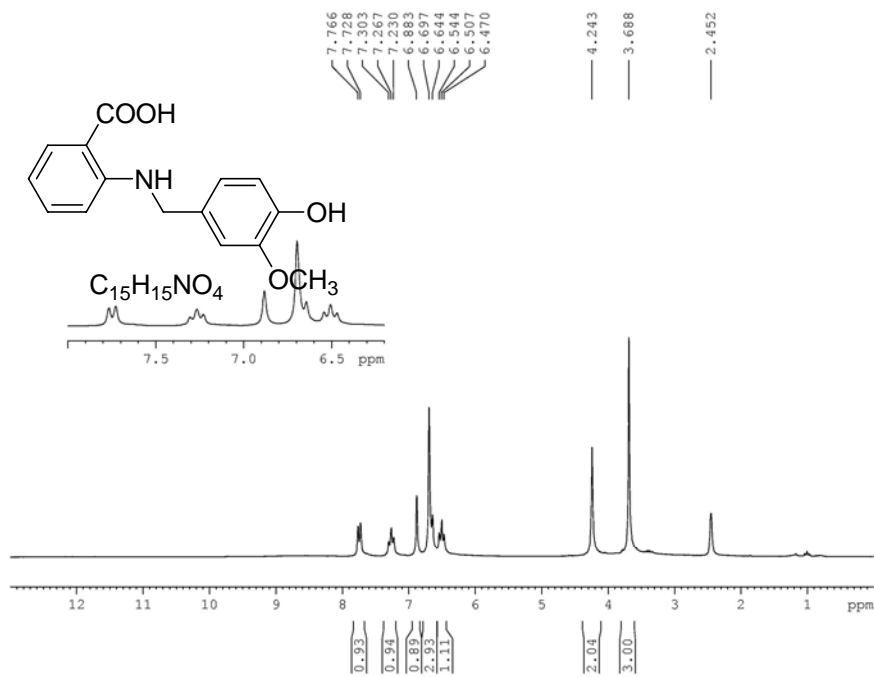


圖 46-3  $^{13}C$ -DEPT(DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 46

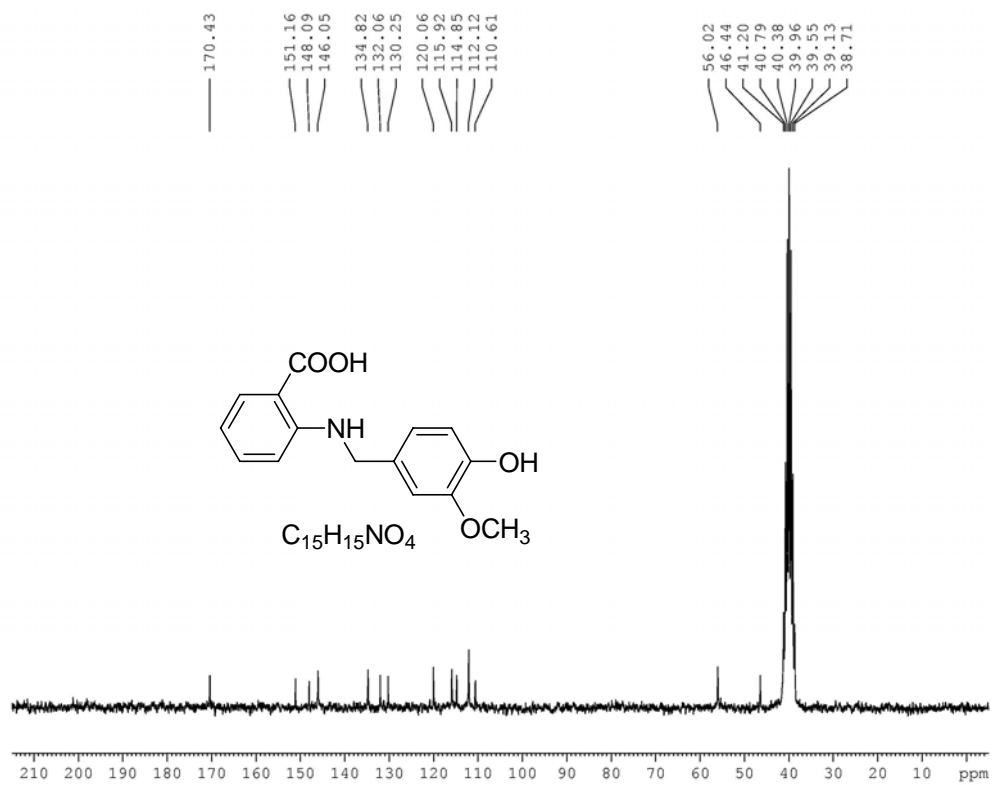


圖 46-4  $^{13}C$  (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 46

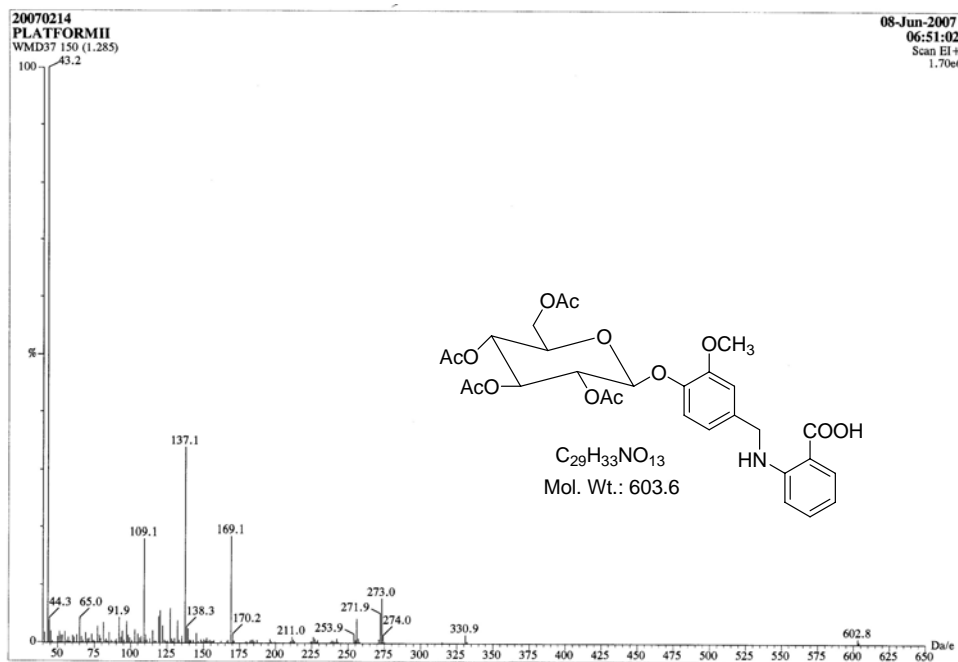


圖 52-1 MASS spectrum of compound 52

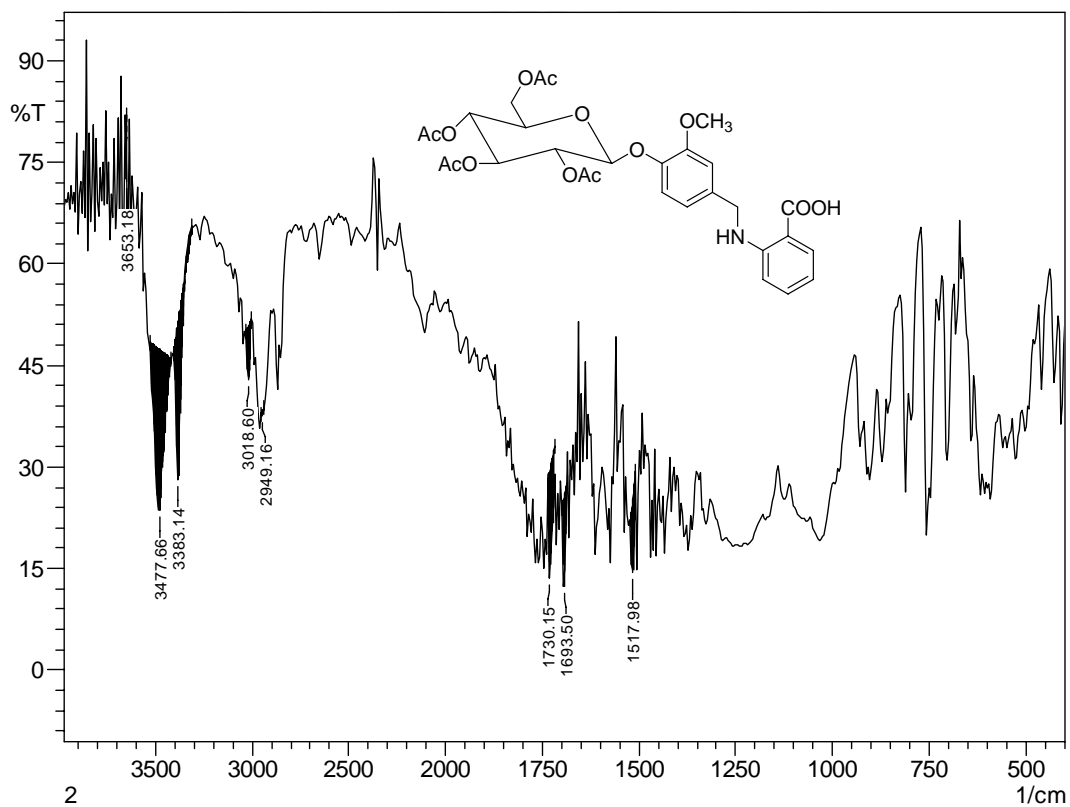


圖 53-2 IR spectrum of compound 53

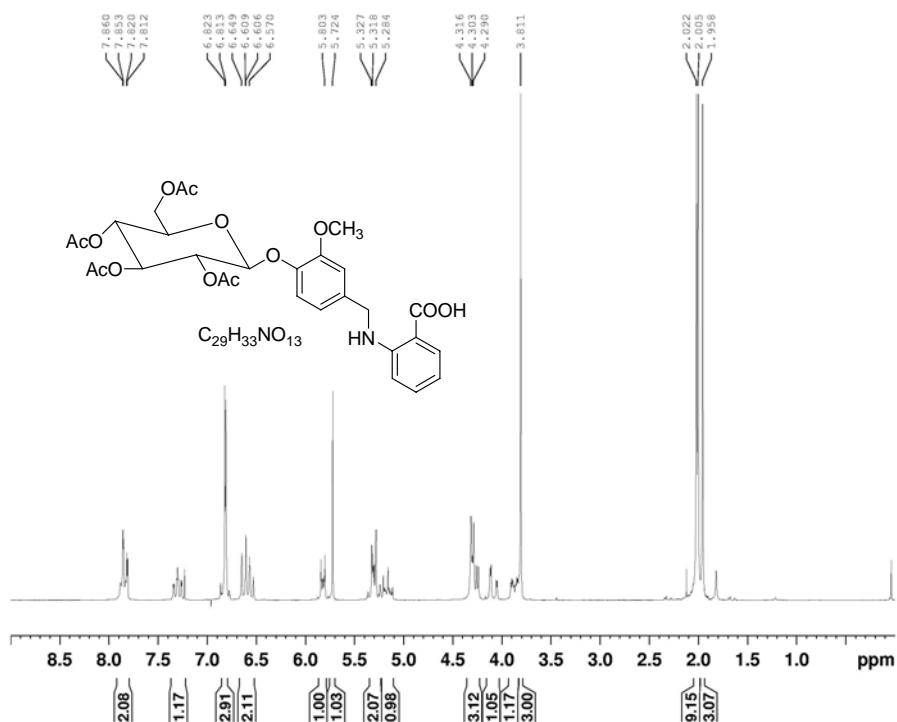


圖 53-3  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 53

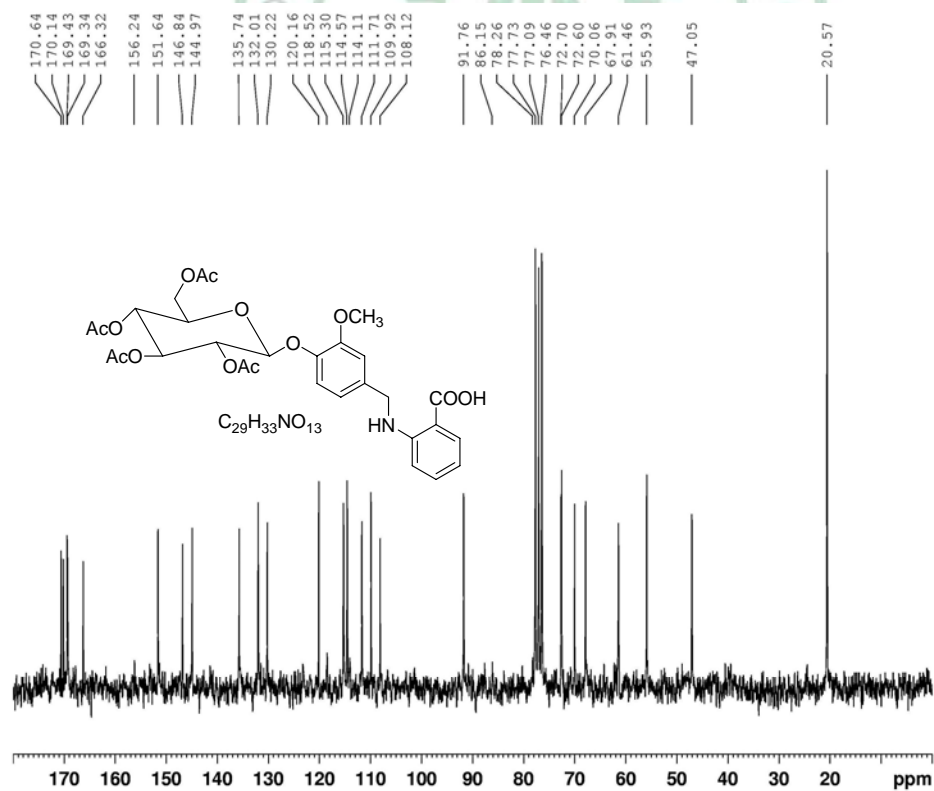


圖 53-4  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 53

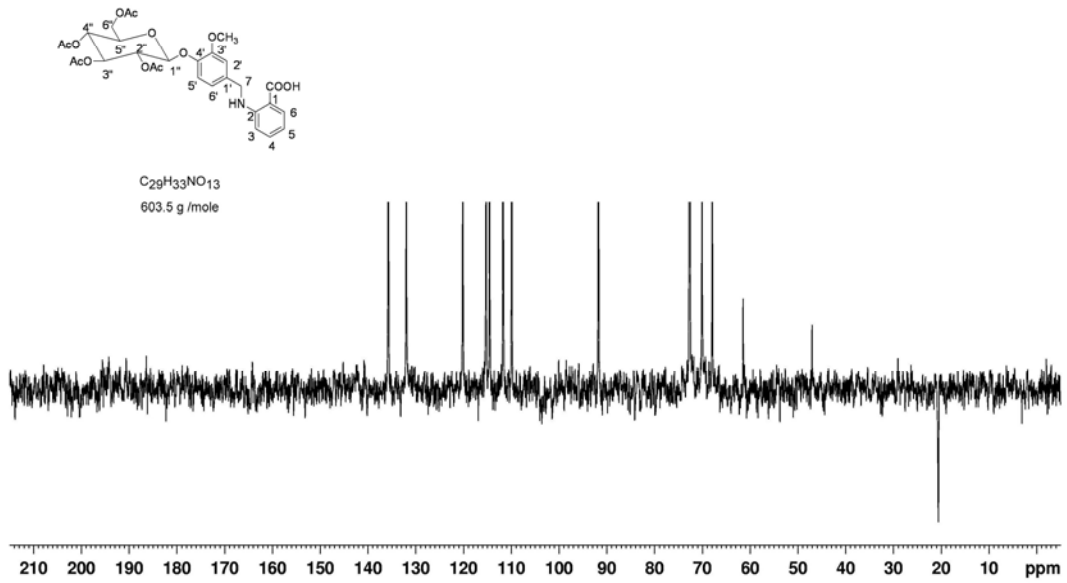


圖 53-5  $^{13}C$ -DEPT  $90^\circ$  (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 53

DEPT135

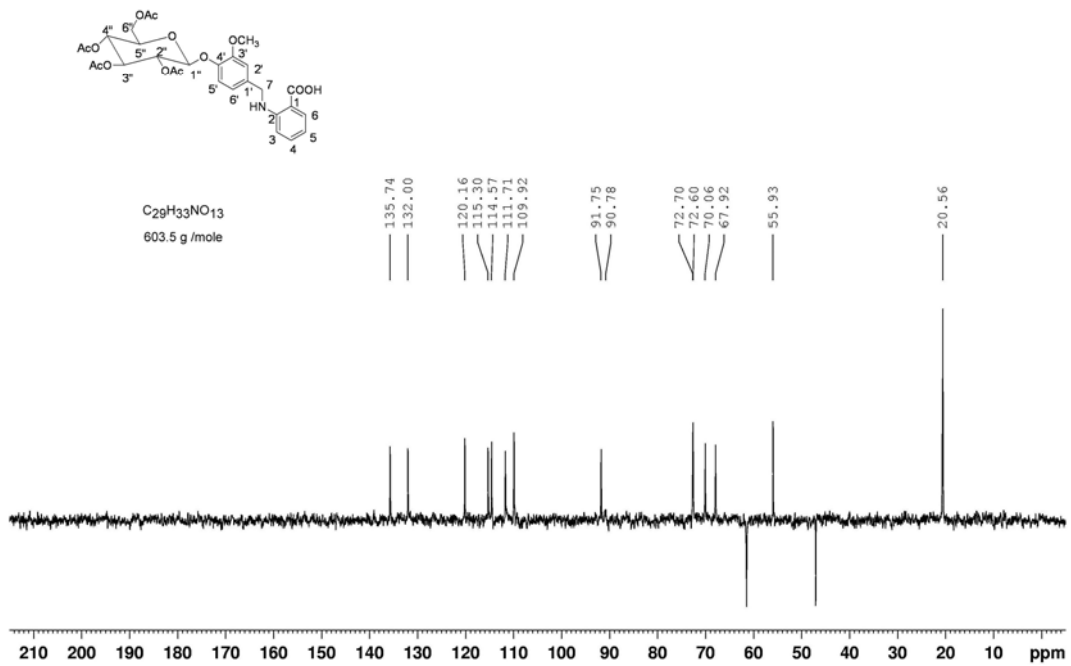


圖 53-6  $^{13}C$ -DEPT  $135^\circ$  (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 53

## 第二節 GM1-ELISA 的抗下痢活性試驗

GM1-酵素結合免疫吸附法(Enzyme-linked Immunosorbent Assay; ELISA)<sup>40</sup> 是將不同濃度的 GM1 與 LTB 於 4 °C 下作用 3 小時，再將混合物加入已吸附 GM1 之 ELISA 平盤上，進行測定，作為陽性對照組的標準曲線。最後可在 OD405 nm 的 ELISA 判讀機進行判讀，進而定出 LTB 與 GM1 的結合比例，數字越小代表其顏色越淺代表抑制率越好。其操作過程如下所述：

1. GM1 (in PBS 200 $\mu$ L) **0.5 $\mu$ L** in PBS( $\times 1$  倍) **10mL $\times$ 100 $\mu$ L** coating in each well on microtitre。 **Incubator**， **37°C**， **16 hrs**。去水，PBST(200mL each well)  $\times$  洗 3 次，拍乾。PBS ( $\times 1$ ；外開) 配製：取 PBS ( $\times 10$ ) 50 mL+ 蒸餾水 950 mL。Phosphate Buffer Solution (磷酸緩衝鹽溶液；PBS)。重新配製溶液，要調整 PH 值且要滅菌 24 小時。
2. BSA in PBS(0.5g in 50mL；1%)  $\times$  **200 $\mu$ L** blocking in each well on microtitre。 **Incubator**， **37°C**， **1 hr**。去水，PBST( $\times 1$  倍  $\times$  200mL each well)  $\times$  洗 3 次，拍乾。PBST ( $\times 1$ ；外開) 配製：取 PBS ( $\times 1$ ) 2000mL+ Tween 20 (1mL)。
3. 冰浴下配製檢測藥品的濃度(100 mM $\times$  1 管  $\times$  300ml)，**Incubator (4°C)**， **Shaking**， **3 hrs**。取藥物 1mg 依不同分子式計算出所需的 DMSO 毫升數，將之配製成每管的藥品濃度固定為 100 mM  $\times$  12 $\mu$ L 置於含有溶媒

[LTBb 4.5 $\mu$ L in BSA-PBS(0.1 %) 9995.5 $\mu$ L(相當於 9.9955mL)]  $\times$  288  $\mu$ L。記得配製(1)陽性對照組[LTBb (4.5 $\mu$ L)in BSA-PBS( 0.1 %)  $\times$  100 $\mu$ L  $\times$  3(well)重覆。(2)陰性對照組 BSA-PBS( 0.1 %)  $\times$  100 $\mu$ L  $\times$  3(well)。(3)標準品 4M4Cl 或 CHSW(或 MNPG (0.5M; 2.4 $\mu$ L) in [LTBb (4.5 $\mu$ L)in BSA-PBS(0.1 %)。注意事項：藥品可一次配製 6 次的量。有時多量可以解決溶解度的問題。LTBb 應保持在 4 $^{\circ}$ C。不要冷凍，避免重覆冷凍與解凍時壞掉。本步驟中藥物的標示要清楚，否則會亂掉。

4. 冰浴，將上述檢測藥品的濃度( 100mM  $\times$  1 管  $\times$  300ml)各取 100ml  $\times$  分 3 次 (3 重覆)於 well，**Incubator**，37 $^{\circ}$ C，1 hr。去水，PBST ( 200mL each well)  $\times$  洗 3 次，拍乾。
5. Avidine (1 $\mu$ L) in BSA-PBS (0.1%) 10mL 彈散  $\times$  100 $\mu$ L in each well on microtitre。 **Incubator**，37 $^{\circ}$ C，1 hr，去水，PBST(200mL each well)  $\times$  洗 3 次，拍乾。Avidine 加太多會造成遮蔽效應，無法顯示出藥物的活性。
6. 關燈避光。配製 pH4.2 的 0.05M Citrate buffer 5934.8 $\mu$ L (5 mL + 934.8  $\mu$ L) + 無色的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 35% 5.2 $\mu$ L + 藍色 ABTS 60 $\mu$ L 混合溶液  $\times$  50 $\mu$ L in each well on microtitre。 **Incubator**，37 $^{\circ}$ C，15 mins(鋁箔紙避光)，移置 ERISA 機測吸收值。
7. 作圖並轉換成抑制濃度及相關曲線圖。

筆者所合成的標的化合物 I-VI 組(Figure. 12)經由 GM1-ELISA 的抗下痢活性試驗，所得的結果將化合物 1-36 表現出對 LTB 結合到 GM1-receptor 的抑制效果，以 OD 405 nm 來表示(Figure. 10)，依公式將化合物 1-36 轉換成抗下痢的抑制濃度，便於化合物間活性的比較。其分子檢測排序表(Table 1.)、檢品及標準品濃度配製表(Table 2.及 3.)

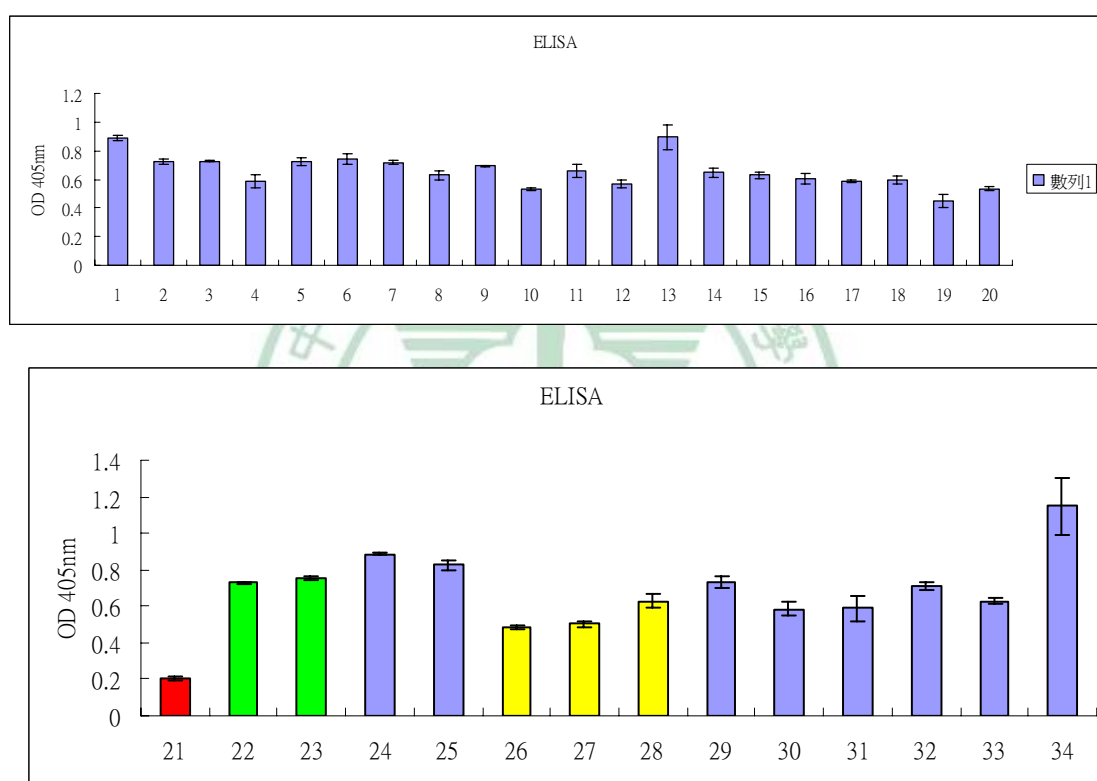


Figure. 10 化合物 1-36 表現化合物對 LTB 結合到 GM1-receptor 的抑制效果，以 OD 405 nm 來表示。

化合物濃度 10  $\mu\text{g} / \text{ml}$

陽性對照組 MNPG；陰性對照組 LTB-b 的量 0.016  $\mu\text{g} / \text{well}$

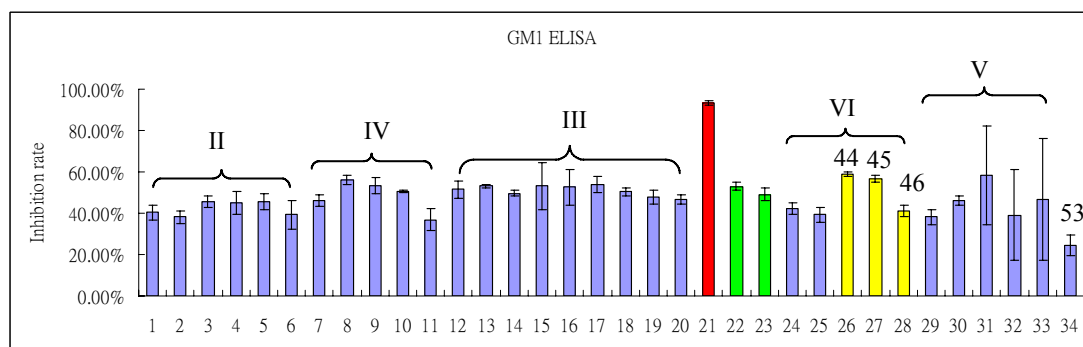
對照標準品 1 王志文的 4M4Cl(109)活性化合物

對照標準品 2 許書維的 HSCW11-4Cl 活性化合物



OD 轉換為 inhibition rate % 計算公式：

$$\text{抑制率(\%)} = 1 - [(\text{Compound 與 LTB 的混合液})_{\text{OD405nm}} - \text{BSA}_{\text{OD405nm}}] / (\text{LTB}_{\text{OD405nm}} - \text{BSA}_{\text{OD405nm}}) \times 100\%$$



- 21 ■ MNPG (m-nitro- $\alpha$ -D-phenyl galapyranoside)  
 22 ■ 4M4Cl 2-(4-chloro benzyloxy)-4-methoxybenzoic acid  
 23 ■ HSCW 2-(4-chloro-3-methoxybenzylamino) benzoic acid

Figure. 11 化合物 1-34(由 OD405nm 值轉換來)的抗下痢的抑制濃度

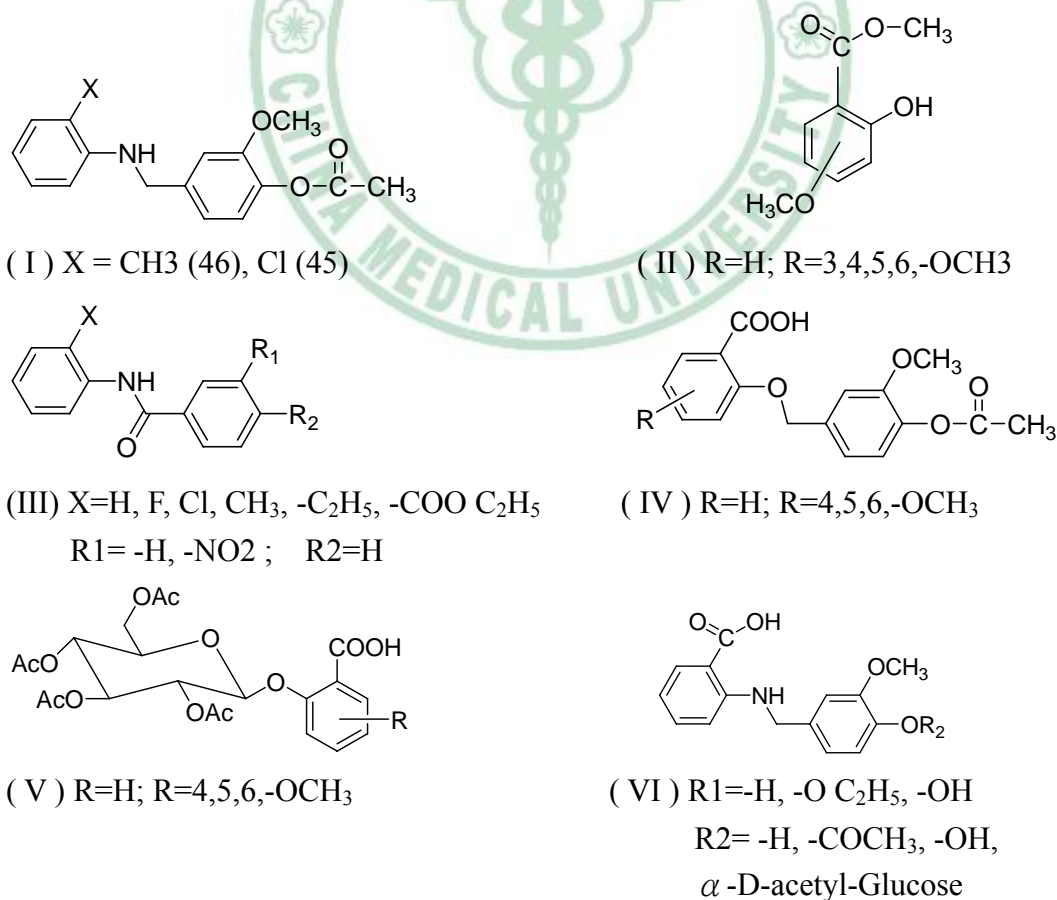


Figure. 12 化合物1-36的分子結構

Table 1. ELISA 藥理試驗的分子測試排序與化學名的對照表

編號	檢測藥物的化學名稱
01	Salicylic acid
02	methyl salicylate
03	methyl 3-methoxy salicylate (wmd002)
04	methyl 4-methoxy salicylate (wmd003)
05	methyl 5-methoxy salicylate (wmd005)
06	methyl 6-methoxy salicylate (wmd006)
07	2-(4-acetoxy-3-methoxy benzyloxy)benzoic acid(wmd022)
08	4-methoxy-2-(4-acetoxy-3-methoxy benzyloxy)benzoic acid(wmd26 )
09	Methyl 2-(4-acetoxy-3-methoxy benzyloxy)benzoate(20060809 )
10	Methyl 2-(4-Acetoxy-3-methoxy benzyloxy) -4-methoxy benzoate(20061207wmd028)
11	ethyl 2-(benzamido)benzoate(20070511)
12	phenylbenzamide(20070514)
13	2-chloro-(4-acetoxy-3-methoxy benzylamine) benzene(20070516)
14	N-(2-chlorophenyl)-3-nitrobenzamide(20070517)
15	N-(2-fluorophenyl)-3-nitrobenzamide(20070518)
16	N-(2-ethylphenyl)-3-nitrobenzamide(20070520)
17	N-(2-methylphenyl)-3-nitrobenzamide(20070522)
18	ethyl 2-(3-nitrobenzamido)benzoate(20070523)
19	2-methyl-(4-acetoxy-3-methoxy benzylamine) benzene(20070525)
20	ethyl 2-(benzamido)benzoate(20070601)
21	m-nitro- $\alpha$ -D-phenyl galapyranoside (MNPG)
22	2-(4-chloro benzyloxy)-4-methoxybenzoic acid (4M4Cl)
23	2-(4-chloro-3-methoxybenzylamino) benzoic ac (CHSW 11-4Cl)
24	Anthranilic acid
25	Ethyl anthranilate
26	Ethyl 2-(4-acetoxy-3-methoxy benzylamino)benzoate(wmd018)
27	Ethyl 2-(4-hydroxy-3-methoxy benzylamino)benzoate(wmd019)
28	2-(4-hydroxy-3-methoxy benzylamino)benzoic acid(wmd032)
29	4-acetoxy-3-methoxybenzyl chloride(wmd025)
30	2-( $\alpha$ -D-acetyl-Glucose) benzoic acid(wmd031)
31	2-[(4- $\alpha$ -D-acetyl-Glucose) 4-methoxy benzoic acid(wmd027)
32	2-[(4- $\alpha$ -D-acetyl-Glucose) 5-methoxy benzoic acid(wmd030)

33	2-[(4- $\alpha$ -D-acetyl-Glucose) 6-methoxy benzoic acid(wmd029)
34	2-[(3-methoxy benzylamino-4-acetyl- Glucose)] benzoic acid (20070214)

Table 2.濃度配製對照表

編號	X( $\mu$ g)	X(MW)	Y(ml)	Y*1000( $\mu$ l)	分子式
01	1000	138.12	0.072401	72.40081089	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>
02	1000	152.15	0.065725	65.72461387	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>
03	1000	182.17	0.054894	54.89378053	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>
04	1000	182.17	0.054894	54.89378053	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>
05	1000	182.17	0.054894	54.89378053	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>
06	1000	182.17	0.054894	54.89378053	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>
07	1000	316.31	0.031615	31.61455534	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub>
08	1000	346.33	0.028874	28.87419513	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub>
09	1000	330.33	0.030273	30.27275755	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>
10	1000	360.4	0.027747	27.74694784	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> NO <sub>7</sub>
11	1000	269.3	0.037133	37.13330858	C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub>
12	1000	197.23	0.050702	50.70222583	C <sub>13</sub> H <sub>11</sub> NO
13	1000	305.76	0.032705	32.70538985	C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> ClNO <sub>3</sub>
14	1000	272.26	0.03673	36.72959671	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>
15	1000	260.22	0.038429	38.4290216	C <sub>13</sub> H <sub>9</sub> FN <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
16	1000	270.28	0.036999	36.99866805	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
17	1000	256.26	0.039023	39.0228674	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
18	1000	314.29	0.031818	31.81774794	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
19	1000	285.34	0.035046	35.04591014	C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>3</sub>
20	1000	269.3	0.037133	37.13330858	C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub>
21	1000	301.25	0.033195	33.19502075	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>8</sub>
22	1000	292.71	0.034164	34.16350654	C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> ClO <sub>4</sub>
23	1000	261.7	0.038212	38.21169278	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> ClNO <sub>2</sub>
24	1000	137.14	0.072918	72.9181858	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>
25	1000	165.19	0.060536	60.53635208	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>
26	1000	343.37	0.029123	29.12310336	C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>5</sub>
27	1000	273.28	0.036593	36.59250585	C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>4</sub>
28	1000	301.3	0.03319	33.18951211	C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>4</sub>
29	1000	214.33	0.046692	46.69188028	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub>

30	1000	435.41	0.022967	22.96685882	C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>
31	1000	498	0.02008	20.08032129	C <sub>22</sub> H <sub>26</sub> O <sub>13</sub>
32	1000	498	0.02008	20.08032129	C <sub>22</sub> H <sub>26</sub> O <sub>13</sub>
33	1000	498	0.02008	20.08032129	C <sub>22</sub> H <sub>26</sub> O <sub>13</sub>
34	1000	603.57	0.016568	16.56808655	C <sub>29</sub> H <sub>33</sub> NO <sub>13</sub>

Table 3. 對照標準品的配製濃度表

測試代號	X(μg)	X(MW)	Y(ml)	Y*1000(μl)	分子式
4M4Cl	1000	1000	261.7	0.038212	38.21169278
HSCW	1000	1000	292.71	0.034164	34.16350654
4M4Cl	2-(4-chloro benzyloxy)-4-methoxybenzoic acid C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> ClNO <sub>2</sub>				
HSCW	2-(4-chloro-3-methoxybenzylamino) benzoic acid C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> ClO <sub>4</sub>				



### 第三節 腸毒素下痢分析(Patent Mouse Gut Assay)

利用 LT 全毒素會造成生物體腸壁 cAMP 濃度的急遽升高導致離子通透性失調之原理，在此使用 female balb/cby mice (4–8weeks, 20–25 g 購自國科會)，將老鼠 starve 16 小時，將化合物與 LT(10 $\mu$ g) 預先混合，於 4 $^{\circ}$ C 下反應 3 小時，將混合物以胃管灌服，6 小時後犧牲，取胃尾端至直腸端之腸部分，秤重。以 Fluid accumulation 計算。Fluid accumulation = G/C；G = 小腸重(g)；C (carcass) = 屍體重(g)。其結果如 Figure. 13 所示。由於本實驗的 LT 毒素的缺乏，所以無法更進一步的進行三重覆及其它方式的活性比較。

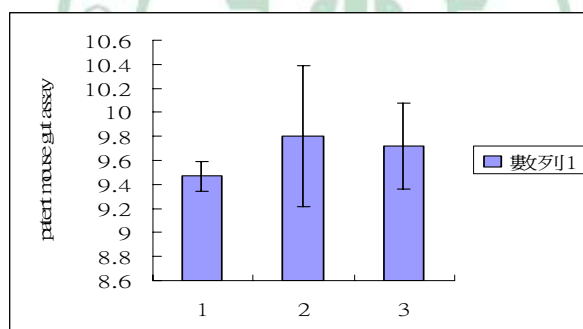


Figure. 13 為化合物 52，利用小白鼠進行腸毒素下痢測試(patent mouse gut assay)，口服給藥口服給藥到達腸腔，所表現的抑制活性。

Mock：只投與 PBS，不會誘發下痢。

LT 組：投與 LT 腸毒素，誘發下痢產生，使腸腔體液堆積。

1Mm：投與 LT 腸毒素與 1Mm 化合物 52

由於本實驗 LTb 的缺乏，所以本實驗無法進行其它濃度的活性比較。

#### 第四節 藥理活性與分子模擬

筆者根據實驗動機所合成的 I、II、III、IV、V、VI 類化合物，將化合物 1-36 經由 GM1-ELISA 的抗下痢的藥理活性測試，其結果如 Figure. 14。化合物 1-36 的分子模擬評估值，如 Figure. 15 及其評估值 Table 4。兩者做比雙曲線圖做比較(Figure. 16)，發現兩者間的曲線有其相似的趨勢。

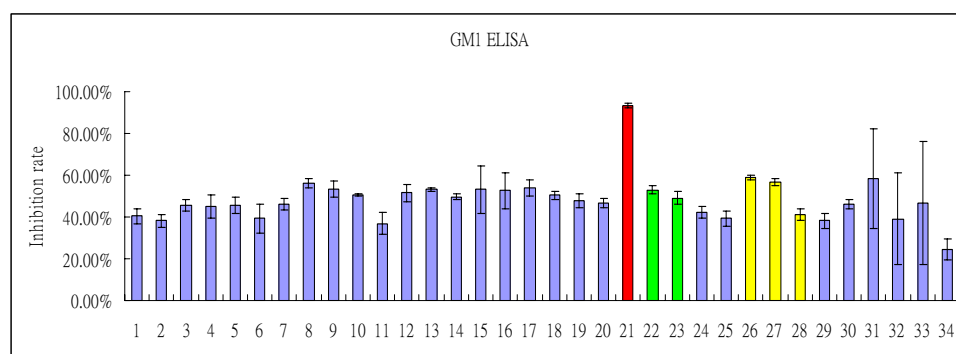


Figure. 14 化合物 1-36 對 LTB 結合到 GM1-receptor 的抑制率

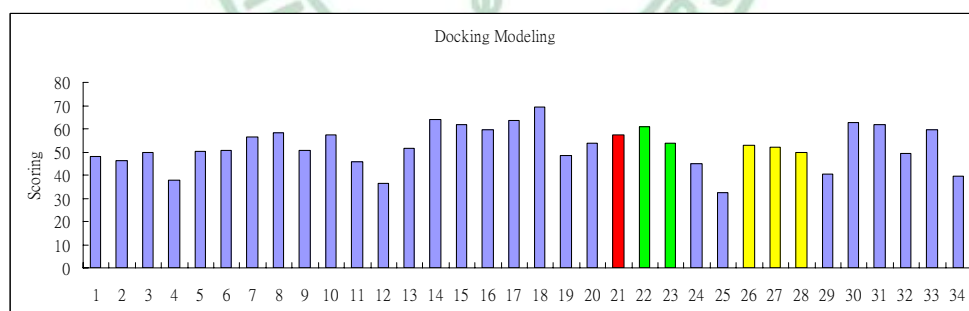


Figure. 15. 化合物 1-34 的分子模擬評估值

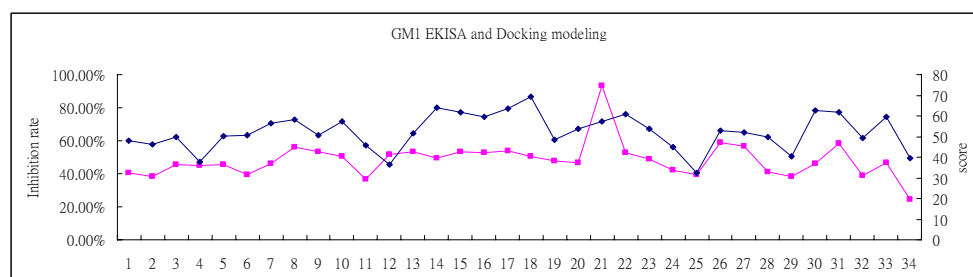
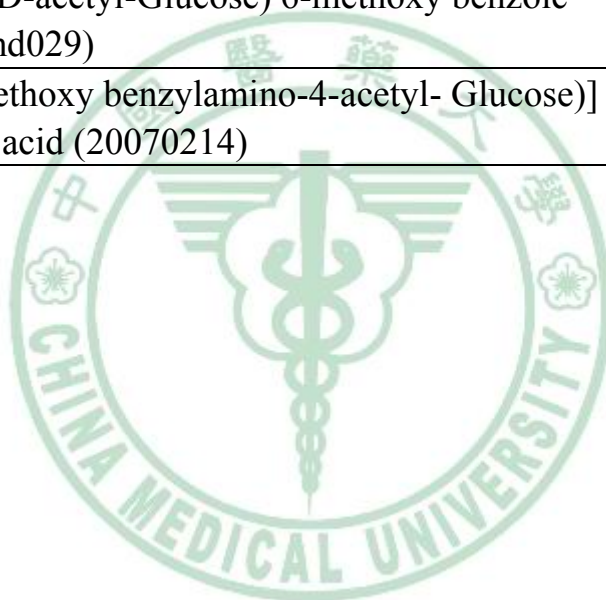


Figure. 16 藥理活性與分子模擬的雙曲線圖

Table 4. 分子模擬的評估值

編號	檢測藥物的化學名稱	評估值
01	Salicylic acid	48.11
02	methyl salicylate	46.18
03	methyl 3-methoxy salicylate (wmd002)	49.735
04	methyl 4-methoxy salicylate (wmd003)	37.876
05	methyl 5-methoxy salicylate (wmd005)	50.317
06	methyl 6-methoxy salicylate (wmd006)	50.625
07	2-(4-acetoxy-3-methoxy benzyloxy)benzoic acid(wmd022)	56.38
08	4-methoxy-2-(4-acetoxy-3-methoxy benzyloxy)benzoic acid(wmd26 )	58.26
09	Methyl 2-(4-acetoxy-3-methoxy benzyloxy)benzoate(20060809 )	50.566
10	Methyl 2-(4-Acetoxy-3-methoxy benzyloxy)-4-methoxy benzoate(20061207wmd028)	57.224
11	ethyl 2-(benzamido)benzoate(20070511)	45.772
12	phenylbenzamide(20070514)	36.417
13	2-chloro-(4-acetoxy-3-methoxy benzylamine) benzene(20070516)	51.719
14	N-(2-chlorophenyl)-3-nitrobenzamide(20070517)	64.129
15	N-(2-fluorophenyl)-3-nitrobenzamide(20070518)	61.587
16	N-(2-ethylphenyl)-3-nitrobenzamide(20070520)	59.64
17	N-(2-methylphenyl)-3-nitrobenzamide(20070522)	63.492
18	ethyl 2-(3-nitrobenzamido)benzoate(20070523)	69.323
19	2-methyl-(4-acetoxy-3-methoxy benzylamine) benzene(20070525)	48.373
20	ethyl 2-(benzamido)benzoate(20070601)	53.903
21	m-nitro- $\alpha$ -D-phenyl galapyranoside (MNPG)	57.32
22	2-(4-chloro benzyloxy)-4-methoxybenzoic acid (4M4Cl)	60.702
23	2-(4-chloro-3-methoxybenzylamino) benzoic ac (CHSW 11-4Cl)	53.807
24	Anthranilic acid	44.798
25	Ethyl anthranilate	32.611

26	Ethyl 2-(4-acetoxy-3-methoxy benzylamino)benzoate(wmd018)	52.987
27	Ethyl 2-(4-hydroxy-3-methoxy benzylamino)benzoate(wmd019)	52.131
28	2-(4-hydroxy-3-methoxy benzylamino)benzoic acid(wmd032)	49.662
29	4-acetoxy-3-methoxybenzyl chloride(wmd025)	40.5
30	2-( $\alpha$ -D-acetyl-Glucose) benzoic acid(wmd031)	62.588
31	2-[(4- $\alpha$ -D-acetyl-Glucose) 4-methoxy benzoic acid(wmd027)	61.687
32	2-[(4- $\alpha$ -D-acetyl-Glucose) 5-methoxy benzoic acid(wmd030)	49.129
33	2-[(4- $\alpha$ -D-acetyl-Glucose) 6-methoxy benzoic acid(wmd029)	59.36
34	2-[(3-methoxy benzylamino-4-acetyl- Glucose)] benzoic acid (20070214)	39.48





## 第四章 結論

### 壹、 分子結構與活性的關係

筆者參考本實驗室學長姐有關抗下痢活性化合物之 SAR，選擇具有抗下痢活性之 2-benzylamino benzoic acid 為基本骨架，著手進行 *N*-substituted benzyl anthranilic acid derivatives 的分子，並藉由光譜數據做充分的解析，以確定分子的結構。所有合成的標的化合物(I-VI) 以最後 GM1-ELISA 篩選方法，進行抗下痢活性測試，經由本研究實驗數據，建立了化合物結構與抗下痢的活性關係(SAR)。如下所述：

- 一、 benzyloxy benzoic acid (IV) 及 benzylamino benzoic acid (VI) 衍生物，普遍具有活性，這顯示羧酸基團(COOH)仍是具有高活性的官能基，此與前面許書維與王志文學長的研究是共同點。
- 二、 化合物 P、Q、R、44、45、46，其結構的共同特色是在苯環上具有甲氧基或羥基，皆屬抗下痢的活性基團。
- 三、 化合物 57 利用小白鼠進行腸毒素下痢的動物試驗(Patent Mouse Gut Assay)中模擬合成分子 46，口服給藥到達腸腔時被分解成原型分子 46，確實具有抗下痢的活性。
- 四、 經 GM1-ELISA 的活性試驗，其結果如分子模擬所預期的化合物 44 是活性最高者。

## 貳、 分子結構與分子模擬的關係

將 I-VI 類化合物中，第 VI 類具明顯的抗下痢的藥理活性(Figure. 17)並進行分子模擬(Figure. 18)，做成雙折線圖(Figure. 19)。

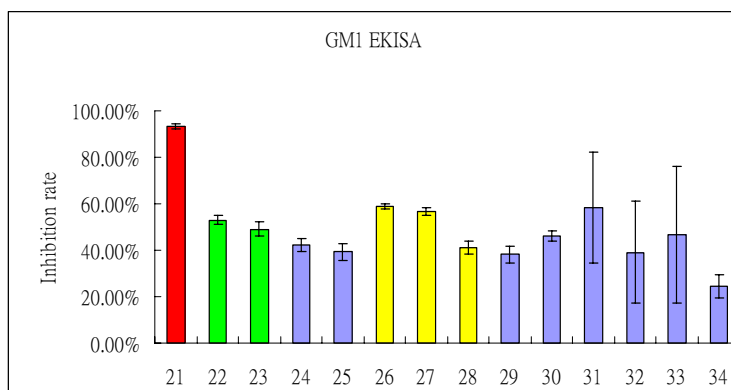


Figure. 17 抗下痢的藥理活性測試

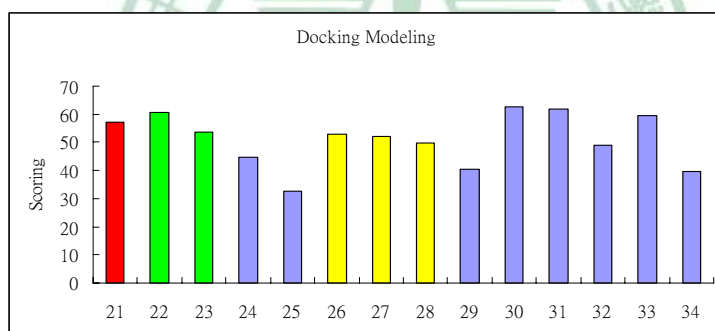


Figure 18 分子模擬的計分值

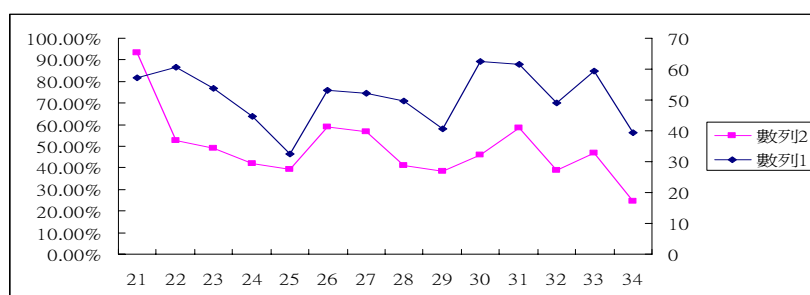


Figure 19 第 VI 系列(25-34)的 GM1 ELISA Inhibition rate 與分子模擬的 Scoring 之間的數值間的趨勢，具有正相關性

經由緒論所得分子模擬圖 Figure.8-13 及藥理與分子模擬長條圖 Figure. 17-18 分析比較後，發現 anthranilic acid 此系列的藥理活性結果與 ducking 的分數有其正相關性(如 Figure 19)。

根據分子模擬圖 Figure.8-13 初步推論化合物氨基萘酸(anthranilic acid)類衍生物(VI)與 LT 間可能的作用模式，如下所述：

1. anthranilic acid 上的羧基上的氧原子為活性所必須，可與 LT 的 Arg 13 產生氫鍵的交互作用。若以此推論，此氧原子可以為羥基或酸或酯類化合物。
2. anthranilic acid 上羰基(C=O)上與 ARG 13 或 ASN 90 產生氫鍵的交互作用。
3. anthranilic acid 所連接的苄基芳香環上的第 3 位或第 4 位有甲氧基，則可增加與 Lys 91 或 Glu 51 產生氫鍵。

如 Figure 20，若將活性分子 44、46、MNPG 等三個化合物以分子模擬做成重疊(Superimpose)，用來說明傳統上藥物分子在平面上的看是相似的分子結構，其實在立體空間上的距離與方向是有明顯的差異性，因而作用在同一受器的活性位，可能是加強活性以做為 agonist 或抑制活性以做為 antagonist。



許多的生物現象，逐一可用分子理論為基礎加以解釋而了解，而藥物化學中之許多困惑問題都與人體之巨大分子如蛋白質，核酸有關。藥物化學的研究近幾十年來，在藥物開發的傳統上是進行取代基的轉變，再經由物理方程式或 SAR 去做藥物與蛋白質間的推測交互作用，由於一個分子對酵素的活性，並非是單一性，可以有數種至數十種的活性，若從失敗中去找尋先導化合物，則較耗費時間、人力、物力與經費且其成功的機率較低。

本實驗中發現，抗下痢的藥理活性與分子模擬有正相關的趨向。分子模型的開發，基於蛋白質的結構已被找出來，模擬其酵素結構進而預測蛋白質與分子受質(ligand)之間的 3D 結構。吾人希望，利用文獻將所有的化合物整合之後並再擴充化合物分子資料庫的篩選，以確立此一模式的正確性，加以分析 VI 系列分子間彼此的共同的特性，更進一步的輔助設計出可以提高分子活性的實驗方向，藉此模式做為初步篩選的平臺，以做為藥理試驗的預試驗，以節省藥物開發所耗費的時間、人力與物力，以做為抗下痢藥物設計的輔助工具。

## 第五章 實驗部份

### 第一節 化學與分生實驗的試藥、溶媒、材料與溶媒配製。

#### 一、 化學試藥：購自於台中景明

Acetyl chloride 500ml /瓶

Ethyl anthranilate 500ml/瓶

4-hydroxy-3-methoxy benzyl chloride 25-50 瓶

Magnesium sulfate anhydrous (99%) 5 Kg/瓶

3-methoxysalicylic acid

4-methoxysalicylic acid (99%) 10 g/瓶

5-methoxy salicylic acid (99%) 25 g/瓶

6-methoxysalicylic acid (98%)

Potassium carbonate anhydrous GR 1 Kg/瓶

Potassium iodide GR (99.5%) 500 g/瓶

Salicylic acid methyl ester (99%) 500 g/瓶

Salicylic acid(99%) 1 Kg/瓶

Sodium hydroxide 1 Kg/瓶

Sulfuric acid ( $H_2SO_4$  ; 95.7%) 1 L/瓶

## 二、 化學溶媒

Acetone GR 25 L/桶(貨號 100014.90)

Acetone-*d*6 deuteration degree min.( 99.8%) for NMR spectr  
0.75 ml/瓶

Chloroform LC 4 L/瓶(CS1332)

Dichlormethane

Dimethyl sulfoxide-*d*6 deuteration degree min. (99.8%) for  
NMRspectr 10 ml/瓶(貨號 1.03424.0)

*N,N*-Dimethylformamide (DMF ; 100% ; 毒管物) 1 L/瓶

Ethanol (95%) 500 ml/瓶

Ethyl acetate GR 25 L/桶

Hydrochloride (HCl ; 37%) 2.5 L/瓶

*n*-Hexane GR 20 L/桶(HX0299-3)

Methanol LC 4 L/瓶(106007.40)

Pyridine GR(99.5%) 1 L/瓶

Tetrahydrofuran LC 4 L/瓶

### 三、 化學實驗的材料購置德國 E. Merck 公司者

Molecular sieve 0.4nm 。

Pre-coated 25 sheets aluminium TLC sheets(Silica gel 60 F254 ; 20x20cm ; layer thickness 0.2mm測定)

Silica gel with moisture indicator(blue gel)

薄層色層分析之TLC aluminium sheets silica gel 60 F254

管柱色層分析之Silica gel 60 for C.C.( 70-230 mesh)當充填劑





四、藥理試驗的儀器規格及耗材

ELISA reader (Fig. 20)

Microtiter plate (Nunc, 442404) (Fig. 21)

Microtiter Finnpiette campus 0.5-10  $\mu$ l、200-1000  $\mu$ l、5 ml。

Micro test tubes、Micro test tip (Fig. 22)。

VORTEX-GENIE-2(Scientific Industries)振盪器(Fig. 23)。

Micro Centrifuge(HSIAMGTAI) ( Fig. 24)。

均勻振盪器(Shaker) (Fig. 26)。



Fig. 20

Fig. 21

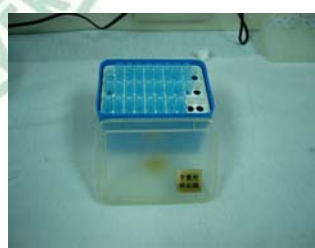


Fig. 22



Fig.23

Fig. 24

Fig. 25

## 第二節 重要儀器

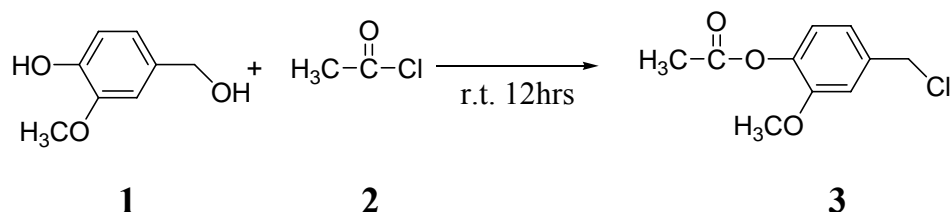
- 一、 融點測定器 (Melting point apparatus) of Yanaco MP-500D :  
其測定範圍在 40 - 500 °C ，溫度未經校正。
- 二、 質譜儀 (Mass spectrophotometer) of EI Mass 以 VG Platform II GC-MS instrument 測定，離子化電壓為 70eV，單位為  $m/z$ 。(中國醫藥大學精密儀器中心)。
- 三、 紅外線光譜儀 (Infrared Spectrophotometer) of Shimadzu IR-Prestige-21 Fourier transform infrared spectrophotometer 以溴化鉀 (KBr) 粉末為打錠稀釋劑，聚苯乙烯 (polystyrene) 為薄膜校正，光譜單位為  $\text{cm}^{-1}$ 。其波數測定數據為經過校正(中國醫藥大學中國藥學研究所)。
- 四、 紫外-可見光光譜儀(UV-visible spectrophotometer) of Shimadzu UV-160A UV-visible recording spectrophotometer 測定，使用甲醇為溶劑，最大吸收波長 ( $\lambda_{\text{max}}$ ) 單位為 nm，以  $\log \varepsilon$  表示 Molar absorptivity。
- 五、 元素分析儀 (Element analyzer) of Perkin elmer PE 2400 series II CHNS/O analyzer 測定，元素分析值與理論值相差在 $\pm 0.4\%$ 以內。(中國醫藥大學精密儀器中心)。

- 六、 紫外光燈 (UV equipment) of CAMAG UV-cabinet II 的紫外燈觀察箱，備有 254 nm 與 366 nm 之光源。
- 七、 氫及碳的核磁共振光譜儀 (Nuclear magnetic resonance spectrometer) of Bruker Avance DPX-200 FT-NMR spectrometer 測定(中國醫藥大學精密儀器中心)。TMS (tetramethylsilane) 0 ppm 為內部標準品。化學符號意義代表如下所述：化學位移表  $\delta$  (ppm)；偶合常數 ( $J$ ；單位 Hz)、單峰(singlet； $s$ )、二重峰 (doublet； $d$ )、雙二重峰(double-doublet； $dd$ )、三重峰 (triplet； $t$ )、四重峰 (quartet； $q$ )、多重峰 (multiplet； $m$ )、寬峰 (broad； $br$ )、強且寬的峰線 (broad and strong； $b, s$ )。



### 第三節 化合物的製備

#### 化合物 4-Acetoxy-3-methoxy benzyl chloride (3) 製備



冰浴，將褐色粉末 4-Hydroxy-3-methoxy benzyl alcohol 100g (0.648 Mole;  $C_8H_{10}O_3$  154.17 g/mole; 熔點  $108^\circ C$ )，以少量多次的方式加入冰浴中含氯化乙醯 500 ml ( 6.48 Mole;  $CH_3COCl$  或  $C_2H_3ClO$ ; 78.5 g/mole; 比重  $1.105 d^{20}$ ; b.p.  $51^\circ C$ ) 的圓底瓶(1000ml)內，強力攪拌，30-60 分鐘內，反應液由褐色懸浮液轉墨綠至黑色溶液，產生氯化氫氣體的放熱過程中維持  $5-10^\circ C$ ，室溫以磁石攪拌 10-12 小時，停止反應。減壓濃縮除去過量的氯化乙醯，得深褐色液體。反應液加入二氯甲烷 100 ml 以防止固化(直接先加入碳酸氫鈉水溶液會立即硬化)，振搖 5 分鐘，慢慢加入飽和的碳酸氫鈉水溶液(碳酸氫鈉加太快會爆衝)以中和反應過程中生成的氯化氫及醋酸，隨之振搖，待二氧化碳完全生成，不再冒泡，倒入分液漏斗，去除水層，最後以蒸餾水洗數次以除去殘餘的碳酸氫鈉，最後取二氯甲烷層，減壓濃縮，得褐色粗反應液。以正己烷做再結晶，靜置 2 小時，白色針狀結晶析出，過濾，取濾質；若沒有析出則加入無水硫酸鎂除水及油液，過濾，減壓濃縮，得 4-acetoxy-3-methoxy benzyl chloride

( $C_{10}H_{11}O_3Cl$  214.65 g/mole)。乾燥得 101.7 克，產率 47.3 %。熔點 45–47°C。Check TLC  $D.S.(n\text{-Hexane } 1.5\text{ml} + \text{EtOAc } 0.5\text{ml})$ 。若產物沒有純化完全或完全乾燥，密蓋時會使產物焦化，若在開啟瓶蓋時會有氣體逸出(小心，不要吸入)，建議加入二氯甲烷將其貯存成液態，須使用時，前 2 天再分批減壓濃縮，乾燥後使用。

化合物 3 的各項光譜數據如下：

**質譜(EIMS ; 70ev ;  $m/z$ ) (圖 3-1).**

分子離子峰( $m/z$  214,  $M^+$ )符合結構分子式  $C_{10}H_{11}ClO_3$  的分子量。

母峰的峰線( $M$ )/( $M+2$ )=3:1 或  $m/e$  ( $M+2$ )的峰線之強度約為母峰強度(高度)的 1/3，為單氯化物的特性。

紫外光譜(UV)  $\lambda_{\text{max}}(\text{CH}_3\text{OH})\text{nm}(\log \epsilon)$ ，其最大的吸收在 332(3.97)

紅外光譜(IR) (圖 3-2)，測定濃度為檢品/溴化鉀(KBr) 1:100。

有 1 支強且尖銳的  $1745\text{cm}^{-1}$  峰線歸屬於酯類的羰基的吸收。

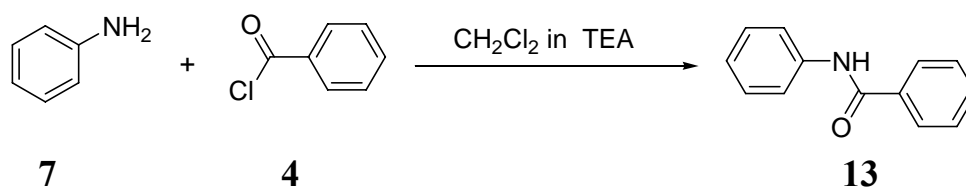
$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) $\delta$ (ppm) :

2.23(3H, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 3.76(3H, s,  $1-\text{OCOCH}_3$ ), 4.73(2H, s,  $-\text{CH}_2-\text{Cl}$ ),  
7.203, 6.98(2H, m, H-2,6), 7.21(H, s, 5-H)。

$^{13}\text{C}$  NMR(DMSO-  $d_6$ , 200 MHz) $\delta$ (ppm) :

20.52( $-\text{OCOCH}_3$ ), 46.10 (benzylic- $\text{CH}_2\text{Cl}$ ), 56.01( $-\text{OCH}_3$ ), 113.33(C-3),  
121.292(C-5), 123.15(C-6), 136.71(C-4), 139.50(C-1), 151.01(C-2),  
168.70 ( $-\text{OCOCH}_3$ ).

## 化合物 phenylbenzamide (13)的製備



室溫，稱取澄明液體 aniline 0.93 克(0.01Mole；C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>N 93.13g/mo) 溶於含二氯甲烷 50 毫升的圓底瓶(100ml)，加入液體 benzoyl chloride 0.705 克(0.005mMole；C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>ClO 141 g/mole)，立即產生白色沉澱，磁石攪拌 2 小時，停止反應，取出磁石，加入澄明液體三乙胺 0.500 克 (Triethylamine；C<sub>6</sub>H<sub>15</sub>N；0.005Mole；101.90g/mole)，使其轉成澄明溶液，靜置 24-72 小時，待二氯甲烷慢慢揮發至透明針狀結晶析出，抽氣過濾，丙酮洗之，取白色針狀濾質。TLC<sub>D.S.</sub>EA in *n*-Hexane：0.1 in 1ml；R<sub>f</sub> = 0.21)。減壓乾燥，稱重，得產物 phenyl benzamide (C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 197.23 g/mole), 1.21 克(產率 61.1%)。熔點 161–162 °C。

化合物 13 的各項光譜數據如下：

質譜(EIMS；70ev；*m/z*) (圖 3-1).

分子離子峰(*m/z* 197，M<sup>+</sup>)符合結構分子式 C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>NO 的分子量。

紫外光譜(UV) λ<sub>max</sub>(CH<sub>3</sub>OH)nm(log ε)，其最大的吸收在 462(3.91)

紅外光譜(IR) (圖 3-2)，測定濃度為檢品／溴化鉀(KBr) 1：100。

有 1 支強且尖銳的 1656cm<sup>-1</sup> 峰線歸屬於酯類的羰基的吸收。

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO- *d*<sub>6</sub>, 200 MHz)δ(ppm)

7.057-7.943 (10H, *m*, Ar-H), 10.213 (1H, *s*, N-H)

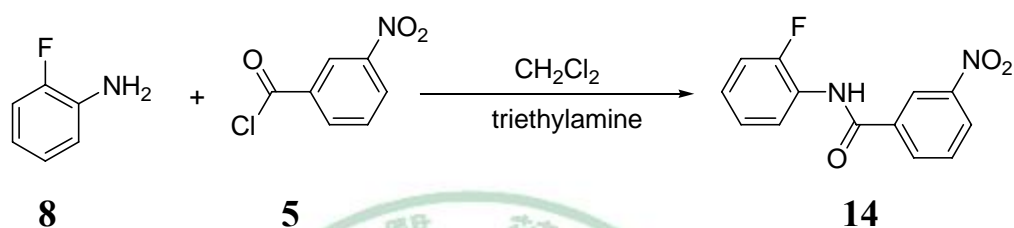
$^{13}\text{C}$ -NMR (DMSO-  $d_6$ , 50 MHz) $\delta$ (ppm)

120.817(2C) ; 124.106 ; 128.099(2C) ; 128.826(2C) ; 129.047(2C) ;

131.984 ; 135.449 ; 139.627 ; 166.016 。

116.16-135.75(8C, aromatic-C), 163.87(C=O)

### 化合物 *N*-(2-fluorophenyl)-3-nitrobenzamide (14) 製備



室溫，稱取澄明液體 2-fluoroaniline 1.115 克(0.01Mole ;  $\text{C}_6\text{H}_6\text{FN}$  111.12g/mol)溶於含二氯甲烷 50 毫升的圓底瓶(100ml)，加入液體 3-nitro benzoyl chloride 0.9278 克 (0.005Mole ;  $\text{C}_7\text{H}_4\text{ClNO}_3$  186 g/mole)，攪拌 2 小時，停止反應，取出磁石，加入澄明液體三乙胺 0.500 克( Triethylamine ;  $\text{C}_6\text{H}_{15}\text{N}$  ; 0.005Mole ; 101.90g/mole )，使其轉成澄明溶液，靜置 24-72 小時，待二氯甲烷慢慢揮發至透明針狀結晶析出，抽氣過濾，丙酮洗之，取白色針狀濾質。得產物 *N*-(2-fluorophenyl)-3- nitrobenzamide ( $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{FN}_2\text{O}_3$  260.22 g/mole) 。

1.64 克(產率 63.2 %)。熔點 151–152 °C 。

化合物 14 的各項光譜數據如下：

質譜(EIMS ; 70ev ;  $m/z$ ) (圖 14-1)

分子離子峰(  $m/z$  260.1 ,  $\text{M}^+$  )符合結構分子式  $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{FN}_2\text{O}_3$  的分子量。

UV :  $\lambda$  max (CH<sub>3</sub>OH) nm (log  $\epsilon$ ) : 255(3.79)

紅外光譜(IR)  $\nu$  (KBr) cm<sup>-1</sup> (34-2) : 濃度檢品 / 溴化鉀(KBr) 1 : 100。

1639.49 cm<sup>-1</sup> 強的吸收峰線歸屬於 C=O 的伸展吸收。

<sup>1</sup>H-NMR (DMSO- *d*<sub>6</sub>, 200 MHz)  $\delta$  (ppm)

7.236-7.306 (3H, *m*), 7.593-7.832 (2H, *m*), 8.352-8.391(2H,*m*),

8.770-8.780 (1H, *d*, J=4Hz), 10.497 (1H, *s*)

<sup>13</sup>C-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 50 MHz)  $\delta$  (ppm)

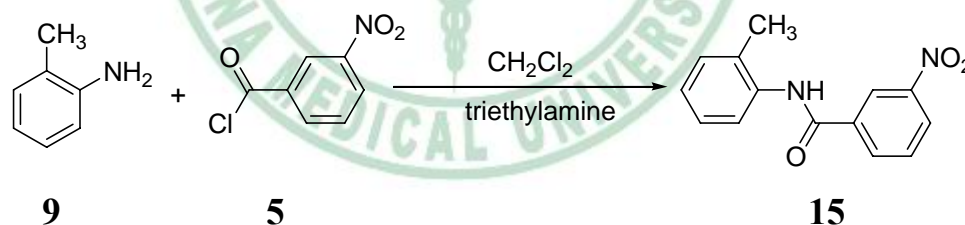
116.168, 116.561, 123.017, 124.801, 124.862, 125.560, 125.803 126.836,

153.76(C-3), 127.595, 130.694, 134.662, 135.750, 148.218, 153.767,

158.682, 163.870. F 造成鄰、間、對位及本位的碳分裂，共 18 個訊號，

13 個碳。

化合物 N-(2-methylphenyl)-3-nitrobenzamide (15) 製備



室溫，稱取澄明液體 2-methylaniline 1.07 克(0.01Mole ; C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>N

107.15g/mole )溶於含二氯甲烷 50 毫升的圓底瓶(100ml)，加入液體

3-nitro benzoyl chloride 0.9278 克 (0.005Mole ; C<sub>7</sub>H<sub>4</sub>ClNO<sub>3</sub> 186

g/mole)，磁石攪拌 2 小時，停止反應。同化合物 13 的製備。

N-(2-methylphenyl)-3- nitrobenzamide (C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 256.26 g/mole) 1.52

克(產率 59.6%)。熔點 141.3–141.5 °C。



化合物 15 的各項光譜數據如下：

UV :  $\lambda$  max (CH<sub>3</sub>OH)nm(log  $\epsilon$ ) : 256(3.89)

紅外光譜(IR)  $\nu$  (KBr) cm<sup>-1</sup> (34-2) : 濃度檢品 / 溴化鉀(KBr) 1 : 100。

1643.35 cm<sup>-1</sup> 強的吸收峰線歸屬於 C=O 的伸展吸收。

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO- *d*<sub>6</sub>, 200 MHz)  $\delta$ (ppm)

2.212(3H, s), 7.157-7.294(4H, m, Ar-H), 7.754-7.834(1H, m),

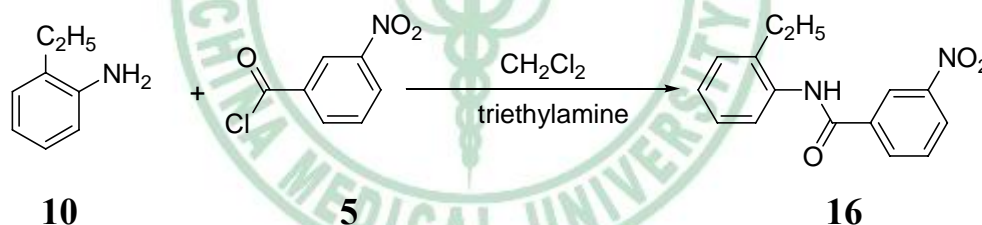
8.367-8.421(2H, m), 8.760-8.789(1H, t, J=1.8Hz), 10.248(1H, s)

<sup>13</sup>C-NMR (DMSO- *d*<sub>6</sub>, 50 MHz)  $\delta$ (ppm)

18.341, 122.887, 126.557(2C), 126.831, 127.138, 130.673, 130.866,

134.326, 134.497, 136.361(2C), 148.247, 163.695。

化合物 N-(2-ethylphenyl)-3-nitrobenzamide (16) 製備



室溫，稱取澄明液體 2-ethylaniline 1.21 克(0.01Mole ; C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>N 121.18g/mol)溶於含二氯甲烷 50 毫升的圓底瓶(100ml)，加入液體 3-nitro benzoyl chloride 0.9278 克 (0.005Mole ; C<sub>7</sub>H<sub>4</sub>ClNO<sub>3</sub> 186 g/mole)，以磁石攪拌 2 小時，停止反應，取出磁石，加入澄明液體三乙胺 0.500 克( Triethylamine ; C<sub>6</sub>H<sub>15</sub>N ; 0.005Mole ; 101.90g/mole )，使其轉成澄明溶液，靜置 24-72 小時，待二氯甲烷慢慢揮發至透明針狀結晶析出，抽氣過濾，丙酮洗之，取白色針狀濾質。得

N-(2-ethylphenyl)-3- nitrobenzamide( $C_{15}H_{14}N_2O_3$  270.28 g/mole。1.73 克  
(產率 64.2 %)。熔點 132.4–132.6 °C。

化合物 16 的各項光譜數據如下：

質譜(EIMS ; 70ev ;  $m/z$ ) (圖 16-1)

分子離子峰(  $m/z$  269.9 ,  $M^+$  )符合結構分子式  $C_{15}H_{14}N_2O_3$  的分子量。

UV :  $\lambda$  max (CH<sub>3</sub>OH)nm(log  $\epsilon$ ) : 272(3.21)

紅外光譜(IR)  $\nu$  (KBr)  $cm^{-1}$  (34-2) : 濃度檢品 / 溴化鉀(KBr) 1 : 100。

1639.49  $cm^{-1}$  強的吸收峰線歸屬於 C=O 的伸展吸收。

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-  $d_6$ , 200 MHz) $\delta$ (ppm)

1.062-1.137(3H, t, J=Hz), 2.541-2.654(2H, m), 7.187-7.310(4H, m),

7.756-7.836(1H, m), 8.369-8.421(2H, m), 8.772-8.781(1H, d, J=Hz),

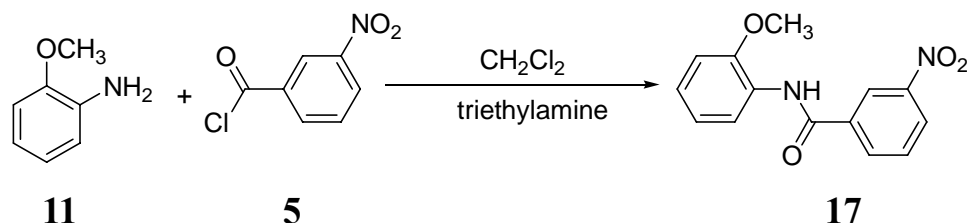
10.253 (1H, s)

<sup>13</sup>C-NMR (DMSO-  $d_6$ , 50 MHz) $\delta$ (ppm)

14.607, 24.383, 122.854, 126.56(2C), 127.312, 128.03 8, 129.029,

130.691, 134.429, 135.717, 136.352, 140.373, 148.272, 164.114

**化合物 N-(2-methoxy-phenyl)- 3-nitrobenzamide (17) 製備**



室溫，稱取澄明紅色液體 2-methoxyaniline 1.23 克(o-Anisidin ;

0.01Mole ;  $C_7H_9NO$  123.16g/mole)溶於含二氯甲烷(50ml)的圓底瓶

(100ml)，加入液體 3-nitro benzoyl chloride 0.9278 克(0.005Mole； $C_7H_4ClNO_3$  186 g/mole)，以磁石攪拌 2 小時，停止反應，取出磁石，加入澄明液體三乙胺 0.500 克( Triethylamine； $C_6H_{15}N$ ；0.005Mole；101.90g/mole)，使其轉成澄明溶液，靜置 24-72 小時，待二氯甲烷慢慢揮發至透明針狀結晶析出，抽氣過濾，丙酮洗之，取白色針狀濾質。乾燥，稱重，1.59 克(產率 58.4%)。N-(2-methoxyphenyl) -3-nitrobenzamide ( $C_{14}H_{12}N_2O_4$  272.26 g/mole)。熔點 137–138 °C。

化合物 17 的各項光譜數據如下：

質譜(EIMS；70ev； $m/z$ ) (圖 17-1)

分子離子峰( $m/z$  272.9,  $M^+$ )符合結構分子式  $C_{14}H_{12}N_2O_4$  的分子量。

UV： $\lambda_{max}$  ( $CH_3OH$ ) $nm(\log \epsilon)$ ：255(3.87)

紅外光譜(IR)  $\nu$  (KBr)  $cm^{-1}$  (34-2)：濃度檢品／溴化鉀(KBr) 1：100。

1660.71  $cm^{-1}$  強的吸收峰線歸屬於 C=O 的伸展吸收。

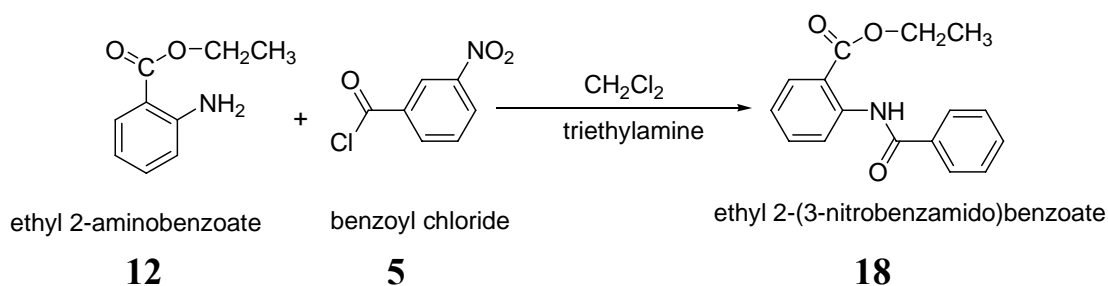
$^1H$ -NMR(DMSO-  $d_6$ , 200 MHz) $\delta$ (ppm)

3.790 (3H, *s*), 6.945-7.151 (3H, *m*), 7.618-7.807(2H, *m*), 8.332-8.400(2H, *m*), 8.718-8.737(1H, *t*,  $J=2Hz$ ), 9.913(1H, *s*)。

$^{13}C$ -NMR (DMSO-  $d_6$ , 50 MHz) $\delta$ (ppm)

56.103, 112.020, 120.628), 122.921, 125.862, 126.52 6, 126.664, 126.936, 130.612, 134.398), 136.425, 148.214, 152.626, 163.649

## 化合物 ethyl 2-(benzamido)benzoate (18) 製備



室溫，稱取澄明液體 Ethyl anthranilate 1.65 克(0.01Mole； $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_2$  165.19g/mol)溶於含二氯甲烷 50 毫升的圓底瓶(100ml)，加入液體 benzoyl chloride 0.705 克(0.005mMole； $\text{C}_7\text{H}_5\text{ClO}$  141 g/mole)，以磁石攪拌 2 小時，停止反應，取出磁石，加入澄明液體三乙胺 0.500 克( Triethylamine； $\text{C}_6\text{H}_{15}\text{N}$ ；0.005Mole；101.90g/mole)，使其轉成澄明溶液，靜置 24-72 小時，待二氯甲烷慢慢揮發至透明針狀結晶析出，抽氣過濾，丙酮洗之，取白色針狀濾質。得 ethyl 2-(benzamido)benzoate ( $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{NO}_3$  269.3 g/mole) 1.55 克(產率 57.7%)。熔點 87.8 – 88.8 °C。

化合物 18 的各項光譜數據如下：

UV： $\lambda_{\text{max}}$  ( $\text{CH}_3\text{OH}$ )nm(log  $\epsilon$ )：347(2.15)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-  $d_6$ , 200 MHz) $\delta$ (ppm)

1.227-1.298 (3H, *t*,  $J=7\text{Hz}$ ), 4.280-4.316 (2H, *m*), 7.210-7.350 (1H, *m*),

7.520-7.610 (4H, *m*)，7.850-8.120(3H, *m*)，8.490-8.532 (1H, *d*,  $J=7\text{Hz}$ ),

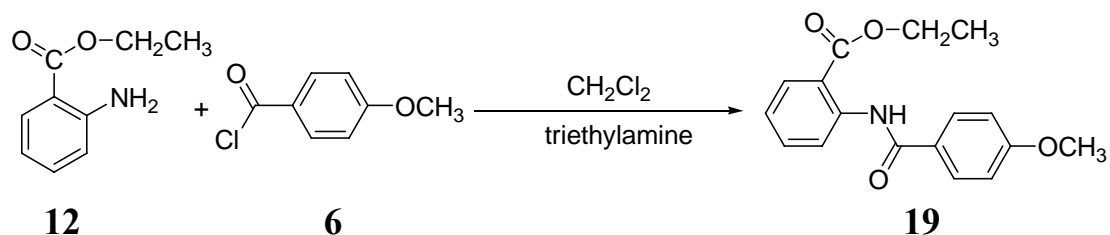
11.560 (1H, *s*, -NH)

$^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO-  $d_6$ , 50 MHz) $\delta$ (ppm)

14.397, 61.872, 117.716), 121.254, 123.798, 127.520(2C), 129.413(3C),

131.175, 132.667, 134.729, 140.716, 165.235), 168.061

### 化合物 ethyl 2-(4-methoxy-benzamido)benzoate (19) 的製備



室溫，稱取澄明液體 Ethyl anthranilate 1.65 克(0.01Mole；

C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>165.19g/mol) 溶於含二氯甲烷 50 毫升的圓底瓶(100ml)，加

入液體 4-methoxy benzoyl chloride 0.855 克(0.005mMole；C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>ClO<sub>2</sub>；

171 g/mole)，以磁石攪拌 2 小時，停止反應。以下處理過程同化合物

13 的製備方法。得 ethyl 2-(benzamido) benzoate (C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub> 269.3

g/mole)。1.53 克(產率 57.1%)。熔點 110–111 °C。

化合物 19 的各項光譜數據如下：

UV：λ max (CH<sub>3</sub>OH)nm(log ε)：296.8(2.76)

紅外光譜(IR)ν (KBr) cm<sup>-1</sup> (圖 34-2)：濃度檢品／溴化鉀(KBr) 1：100。

1670.35 cm<sup>-1</sup> 強的吸收峰線歸屬於 C=O 的伸展吸收。

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 200 MHz)δ(ppm)

1.236-1.307 (3H, *t*, J=7.6Hz), 3.801(3H, *s*), 4.248-4.355(2H, *dd*, J=7Hz),

7.055-7.196 (3H, *m*), 7.611(1H, *t*), 7.857-7.948 (3H, *m*), 8.555 (1H, *d*,

J=8.4Hz), 11.533 (1H, *s*, -NH)

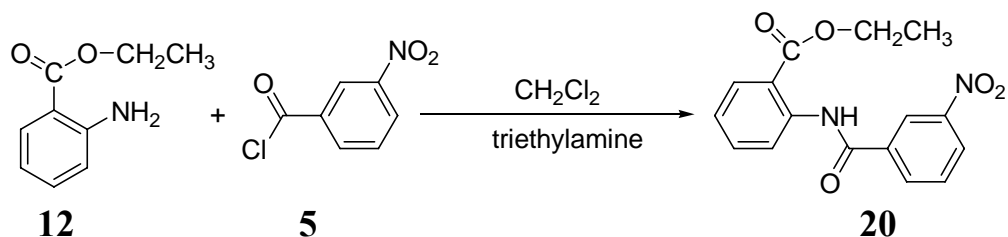
<sup>13</sup>C-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 50 MHz)δ(ppm)

14.4037, 55.941, 61.852, 114.651(2C), 117.160, 120.971, 123.403,

126.866, 129.454(2C), 131.158, 134,749, 141.118, 162.793, 164.687,

168.165

化合物 ethyl 2-(3-nitrobenzamido)benzoate (20) 製備



室溫，稱取澄明液體 Ethyl anthranilate 1.65 克(0.01Mole； $C_9H_{11}NO_2$ 165.19g/mol)溶於含二氯甲烷 50 毫升的圓底瓶(100ml)，加入液體 3-nitro benzoyl chloride 0.9278 克(0.005Mole； $C_7H_4ClNO_3$  186 g/mole)，以磁石攪拌 2 小時，停止反應。同化合物 13 的製備方法。得 ethyl 2-(3-nitrobenzamido) benzoate ( $C_{16}H_{14}N_2O_5$  314.29 g/mole)。1.63 克(產率 52.1%)。熔點 113–114 °C。化合物 20 的各項光譜數據：質譜(EIMS；70ev； $m/z$ ) (圖 20-1)

分子離子峰( $m/z$  314.9,  $M^+$ )符合結構分子式  $C_{16}H_{14}N_2O_5$  的分子量。

UV： $\lambda_{max}$  (CH<sub>3</sub>OH)nm(log  $\epsilon$ )：255(3.99)

紅外光譜(IR)  $\nu$  (KBr)  $cm^{-1}$  (34-2)：濃度檢品／溴化鉀(KBr) 1：100。

1687.71  $cm^{-1}$  強的吸收峰線歸屬於 C=O 的伸展吸收。

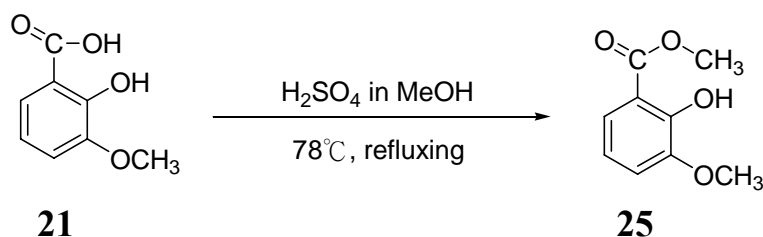
$^1H$ -NMR(DMSO- $d_6$ , 200 MHz) $\delta$ (ppm)

1.203-1.274 (3H, *t*,  $J=7.2$ Hz), 4.266-4.301(2H, *m*), 7.258-8.696 (8H, *m*, Ar-H), 11.505 (1H, *s*, -NH)

$^{13}C$ -NMR (DMSO- $d_6$ , 50 MHz) $\delta$ (ppm)

14.387, 61.804, 119.755, 122.467(2C), 124.668, 127.054, 131.102, 131.185, 134.397, 134.397, 136.228, 139.490, 148.466, 163.240, 167.716

## 化合物 Methyl 3-methoxy salicylate (25)的製備



室溫，稱取褐色粉末 3-methoxy salicylic acid (21) 1.68 克 ( 0.01mole ; C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub> ; 168.15g/mole ) 置於含甲醇 32.0 克 ( 1mole ; CH<sub>3</sub>OH ; 32g/mole ; 67°C ; d<sup>25</sup> =0.79 ; 約 40.5ml ) 的三頸瓶，以磁石攪拌溶解，以滴加管加入催化劑濃硫酸 1.97 克 ( 0.02mole ; H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ; 98.5 g/mole, d<sup>25</sup> =1.84, bp 274°C )，待完全加入後，加熱迴流(78°C)，過程中反應液由黃色轉褐色至紅色澄明溶液，16 個小時，停止反應並降至室溫。冰浴，加入碳酸氫鈉 1.68 克(0.02mole; 84g/mole)的水溶液以中和硫酸，減壓濃縮。萃取，將濃縮液倒入分液漏斗，以碳酸氫鈉的水溶液(5%)與氯仿為配對溶媒，以除去鹽類與殘餘原料 3-methoxy-salicylic acid。萃取，以甲醇與正己烷為萃取配對溶媒，以除去顏色物質，取正己烷層濃縮，得白色粉末產物。重覆萃取與濃縮至正己烷沒有白色產物出現。以乙醇做再結晶，得白色針狀結晶 Methyl 2-hydroxy-3-methoxy benzoate (C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub> ; 182.17g / Mole)。乾燥，稱重得 1.2 克，產率 65.93 %。熔點 51 – 55°C。TLC<sub>D.S.</sub> : Ethanol in n-Hexane 取 1 : 1。

化合物 **25** 的各項光譜數據如下：

UV :  $\lambda_{\max}$  (CH<sub>3</sub>OH)nm(log  $\epsilon$ ) : 318.5(3.38)

<sup>1</sup>H-NMR ( DMSO- *d*<sub>6</sub>, 200MHz) $\delta$ (ppm) :

3.754(3H, *s*, C3-OCH<sub>3</sub>), 3.832(3H, *s*, -COOCH<sub>3</sub>), 6.756-6.836 (1H, *m*),

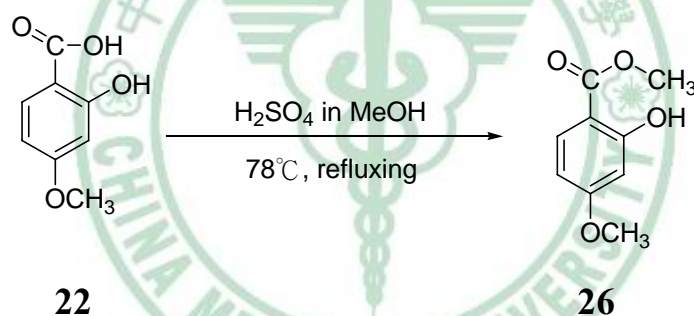
7.125-7.165(1H, *m*) ,7252-7.299 (1H, *m*), 10.509(1H, *s*, -OH)

<sup>13</sup>C-NMR(DMSO- *d*<sub>6</sub>,200MHz) $\delta$ (ppm)

52.873(1-COOCH<sub>3</sub>) , 56.237(3-OCH<sub>3</sub>) , 113.260 , 117.434 119.128

121.121 , 148.679 , 151.120, 170.186(7-C=O) 。

化合物 **Methyl 4-methoxy salicylate(26)**的製備



室溫，稱取白色顆粒 4-methoxy salicylic acid (**22**) 1.68 克

( 0.01mole; C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>, 168.15g/mole, MP 150–152°C)於含甲醇 32.0 克

(1mole; CH<sub>3</sub>OH; 32g/mole; 67°C;  $d^{25}$ =0.79; 約 40.5ml)的圓底瓶，

以滴加管加入催化劑濃硫酸 1.97 克(0.2mole; H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 98.5 g/mole,  $d^{25}$   
=1.84, bp 274°C)，以磁石攪拌溶解，待完全加入後，加熱迴流(78 °C)，

呈淡黃色澄清透明溶液，30 小時後，停止反應，降至室溫。反應液

倒入含有冰塊的碳酸氫鈉 1.68 克(0.02mole; 84g/mole)水溶液以中和



硫酸，以玻璃棒攪拌，沉澱析出，過濾，取黃色濾餅。萃取，用氯仿的碳酸氫鈉水溶液(5%)，以除去，以除去鹽類與殘餘原料 4-methoxy salcylic acid，取氯仿層濃縮。萃取，以甲醇與正己烷為萃取配對溶媒，以除去褐色物質，取己烷層濃縮，得白色結晶產物(重覆至步驟並直到濃縮正己烷層沒有白色產物出現)。乙醇做再結晶，得針狀結晶 Methyl 2-hydroxy-4-methoxy benzoate ( $C_9H_{10}O_4$  ; 182.17g / Mole)。乾燥，稱重得 1.12 克，產率 61.48 %。熔點 45.5–47 °C。TLC<sub>system</sub>: Ethanol in n-Hexane 取 1 : 1。

化合物 26 的各項光譜數據如下：

UV :  $\lambda_{max}$  (CH<sub>3</sub>OH)nm(log  $\epsilon$ ) : 318.6(3.39)

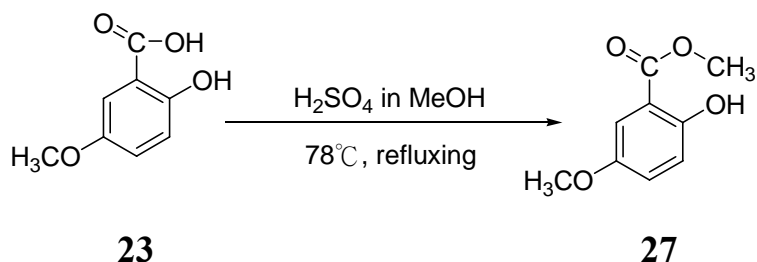
<sup>1</sup>H-NMR ( DMSO- *d*<sub>6</sub>, 200MHz)δ(ppm) :

3.785(3H, *s*, C<sub>3</sub>-OCH<sub>3</sub>), 3.874(3H, *s*, -COOCH<sub>3</sub>), 6.370-6.422 (2H, *m*), 7.667-7.716(1H, *m*) , 10.968 (1H, *s*, -OH)

<sup>13</sup>C-NMR(DMSO- *d*<sub>6</sub>,200MHz)δ(ppm)

52.340(1-COOCH<sub>3</sub>) , 55.800(3-OCH<sub>3</sub>) , 101.160 , 105.480, 107.610, 131.510, 163.270, 165.650, 169.980。

### 化合物 Methyl 5-methoxy salicylate(27)的製備



室溫，稱取灰白色(或褐色)的原料 5-methoxy Salicylic acid (**23**) 5.055 克(0.03mole; C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>, 168.15g/mole)於含甲醇 100.5 毫升(3mole; CH<sub>3</sub>OH; 32g/mole; d<sup>25</sup> =0.79; 沸點 67°C)的圓底瓶，以滴加管加入催化劑濃硫酸 3 毫升(0.3mole; H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 98.5 g/mole, d<sup>25</sup> =1.84)，以磁石攪拌成褐色澄明溶液，加熱迴流 24 小時，停止反應，降至室溫。冰浴，加入碳酸氫鈉 2.52 克(0.03mole; 84g/mole)的水溶液以中和硫酸，減壓濃縮。萃取，將濃縮液倒入分液漏斗，以碳酸氫鈉水溶液(5%; 5g in 100ml H<sub>2</sub>O; 0.059 mole; NaHCO<sub>3</sub> 84.01g/mole)與氯仿為配對溶媒，以除去鹽類與濃硫酸與殘餘原料 5-methoxy-salicylic acid。取氯仿層，減壓濃縮。管柱層析的填充固定相矽膠(25cm in 30cm × 3cm ; Silica gel 200 克 ; 移動相採 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; 收集金黃色段層，全速 10-15 分鐘)，得黃色澄清透明液體產物 Methyl 2-hydroxy-5-methoxy-benzoate (C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>; 182 g/mole)，乾燥，稱重得 2.96 克，產率 54.21 %。Check TLC ( R<sub>f</sub> = 0.75 ; 原料 in THF ; TLC <sub>D.S.</sub> EtOAc in *n*-Hexane = 0.5ml in 2.0ml )。

化合物 **27** 的各項光譜數據如下：

UV :  $\lambda_{\max}$  (CH<sub>3</sub>OH)nm(log  $\epsilon$ ) : 318.5(3.38)

<sup>1</sup>H-NMR ( DMSO- *d*<sub>6</sub>, 200MHz)δ(ppm) :

3.681(3H, *s*, C<sub>3</sub>-OCH<sub>3</sub>), 3.857(3H, *s*, -COOCH<sub>3</sub>), 6.855-6.899 (1H, *m*),

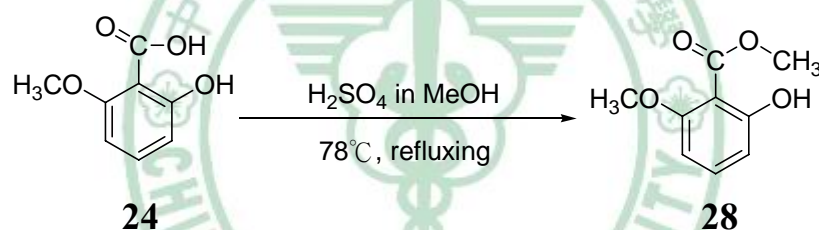
7.065-7.1646(2H, *m*) , 10.122 (1H, *s*, -OH)

<sup>13</sup>C-NMR(DMSO- *d*<sub>6</sub>,200MHz)δ(ppm)

52.164 , 52.768 , 113.675 , 118.045, 120.776, 132.128, 135.831, 163.532,

165.254, 168.177 。

化合物 **Methyl 6-methoxy salicylate(28)**的製備



稱取白色粉末的原料 6-methoxy Salicylic acid (**24**) 5.055 克 (0.03mole; C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>, 168.15g/mole)於含甲醇 850 毫升(30 mole ; d<sup>25</sup> =0.79 ; 沸點 67°C)的圓底瓶，以滴加管加入催化劑濃硫酸 3 毫升 (0.3mole; H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ; 98.5 g/mole, d<sup>25</sup> =1.84)，以磁石攪拌成無色透明溶液，加熱迴流 36 小時，停止反應，降至室溫。冰浴，加入碳酸氫鈉 2.52 克(0.03mole; 84g/mole)的水溶液以中和硫酸，減壓濃縮。萃取，將濃縮液倒入分液漏斗，以碳酸氫鈉的水溶液(5%)與氯仿為配對溶媒，以除去鹽類與殘餘原料 6-methoxy-salicylic acid。萃取，採用碳酸

氫鈉水溶液(5%)與二氯甲烷為配對溶媒以除去鹽類與原料 6-methoxy Salicylic acid，取氣仿層濃縮。再結晶溶媒為乙醇，靜置 4 天，白色物質析出，過濾，取濾質，乙醇洗之，得白色結晶產物。Methyl 2-hydroxy-6- methoxy benzoate (**28**)( $C_9H_{10}O_4$ ; 182 g / mole )。乾燥，稱重得 2.83 克，產率 51.83 %。熔點 49.6–51.2 °C。Check TLC (  $R_f$  = 0.72; 原料 in THF; TLC developing solvent: EtOAc in *n*-Hexane=0.5ml in 2.0ml)。

化合物 28 的各項光譜數據如下：

質譜(EIMS; 70ev;  $m/z$ ) (圖 27-1)

分子離子峰(  $m/z$  182.1,  $M^+$  )符合結構分子式  $C_9H_{10}O_4$  的分子量。

UV:  $\lambda_{max}$  (CH<sub>3</sub>OH)nm(log  $\epsilon$ ) : 318.5(3.38)

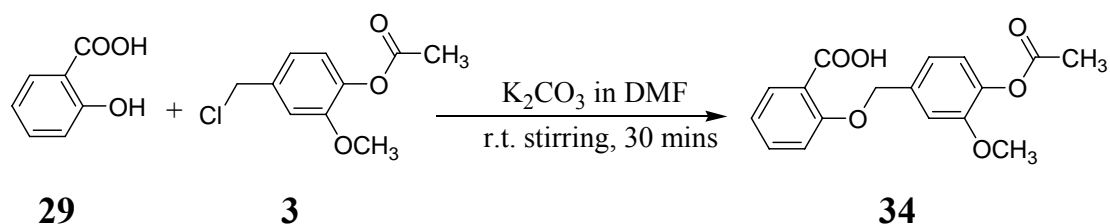
<sup>1</sup>H-NMR ( DMSO-  $d_6$ , 200MHz) $\delta$ (ppm) :

3.671(3H, *s*, C<sub>3</sub>-OCH<sub>3</sub>), 3.693(3H, *s*, -COOCH<sub>3</sub>), 6.431-6.479 (2H, *m*), 7.094-7.177(1H, *m*), 9.919 (1H, *s*, -OH)

<sup>13</sup>C-NMR(DMSO-  $d_6$ ,200MHz) $\delta$ (ppm)

52.244(1-COOCH<sub>3</sub>) , 56.067(3-OCH<sub>3</sub>) , 102.376 , 108.935, 111.416, 131.477, 155.880, 157.580, 167.157。

### 化合物 2-[(4-Acetoxy-3-methoxy)benzyloxy] benzoic acid (34)的製備



室溫，稱取白色顆粒 Salicylic acid 1.38 克 (0.01Mole ;  $C_7H_6O_3$  138.12g/mole) 溶於含 DMF 20 毫升的圓底瓶，加入無水碳酸鉀 1.38 克 (0.01 Mole ; 138.21g/mole) 與碘化鉀 1.66 克 (0.01 Mole ; 166.00g/mole)成白色懸浮液，加入 4-acetoxy-3-methoxy-benzyl chloride 2.14 克(0.01 Mole ;  $C_{10}H_{11}O_3$  214.65 g/mole)，強力攪拌成黃色懸浮液溶液，30 分鐘，停止反應。將反應液於含水(500ml)與以二氯甲烷(200ml)的混合溶液，轉動混合，將反應液倒入分液漏斗，取二氯甲烷層，減壓濃縮，得褐色溶液。管柱層析的移動相為 *n*-Hexane in EtOAc ( 1 : 3 )進行分離，減壓濃縮，得白色粉末。再結晶溶媒為乙醇，得針狀結晶。乾燥，稱重 1.67 克，產率 52.79 %。90–91 °C 測圖譜，數據如下。得產物 2-[(4-Acetoxy-3- methoxy) benzyloxy]benzoic acid ( $C_{17}H_{16}O_6$  ; 316.3 g / mole)。Check TLC (  $R_f = 0.82$  ; 原料 in THF ; TLC developing solvent: *n*-Hexane 1.5ml + EtOAc 0.5ml ; 3 : 1)。

化合物 34 的各項光譜數據如下：

質譜(EIMS ; 70ev ;  $m/z$ ) (圖 33-1)

分子離子峰(  $m / z$  316.0 ,  $M^+$  )符合結構分子式  $C_{17}H_{16}O_6$  的分子量。

UV :  $\lambda$  max (CH<sub>3</sub>OH)nm(log  $\epsilon$ ) : 262.5(3.74)

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO- *d*<sub>6</sub>, 200 MHz) $\delta$ (ppm)

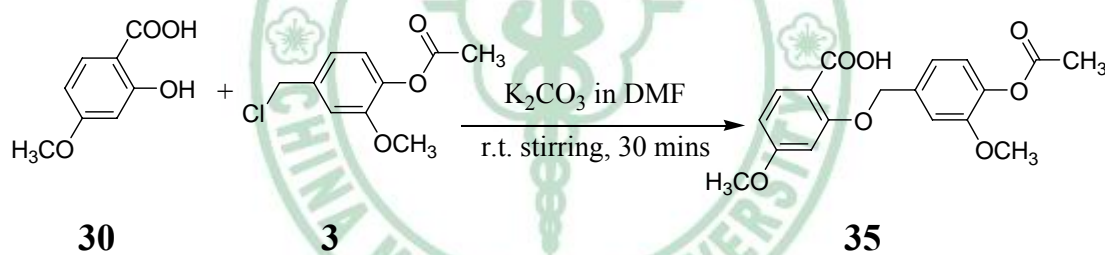
2.218(3H, *s*) , 3.750(3H, *s*) , 5.326(2H, *s*) , 6.856-7.062(4H, *m*) , 7.240(1H, *s*) , 7.437-7.489(1H, *m*) , 7.759-7.806(1H, *m*) , 10.479(1H, *s*, -OH) 。

<sup>13</sup>C-NMR (DMSO- *d*<sub>6</sub>, 50 MHz) $\delta$ (ppm)

20.817, 56.258, 66.693, 113.115, 113.577, 117.867, 119.914, 120.749, 123.342, 130.624, 134.939, 136.153, 139.648, 151,288, 160.539, 168.940 (2C) 。

化合物 4-methoxy 2-[(4-Acetoxy-3- methoxy)benzyloxy] benzoic acid]

(35)的製備



抽氣櫃操作。室溫，稱取原料灰白色固體 5-methoxy-2-hydroxy-benzoic acid 1.68g (0.01 Mole ; C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>, 168 g/ mole) 溶於含二甲醯胺 (DMF) 10-15 毫升的圓底瓶，加入白色顆粒的無水碳酸鉀 138.21 克 (0.01 Mole ; 138.21g/mole) 與白色顆粒的碘化鉀 166 克 (0.01 Mole ; 166.0g/mole) 與 4-acetoxy-3-methoxy-benzyl chloride 214.65 克 (0.01 Mole ; C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>O<sub>3</sub> 214.65 g/mole)，磁石攪拌，反應液轉成黃白色懸浮液，30 分鐘，停止反應。加入蒸餾水 50m，立即沉澱，靜置 10 分鐘，過

濾，丙酮洗之，得灰色粗產物。70℃，乙醇(10ml)做再結晶，加正己烷(15ml)至澄清溶液，過濾，靜置，無色透明結晶析出，過濾取得透明無色結晶。乾燥，稱重 1.71 克，產率 49.33%。熔點 70–71 °C。得產物 4-methoxy 2-[(4-Acetoxy -3- methoxy)benzyloxy] benzoic acid (C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>O<sub>7</sub>; 346.33)。Check TLC 溶媒系統同 34。測圖譜，數據如下。

化合物 35 的各項光譜數據如下：

質譜(EIMS; 70ev; *m/z*) (圖 35-1)

分子離子峰( *m / z* 346.0, M<sup>+</sup>)符合結構分子式 C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>O<sub>7</sub> 的分子量。

UV: λ max (CH<sub>3</sub>OH)nm(logε): 261.5(3.81)

紅外光譜(IR) ν (KBr) cm<sup>-1</sup> (35-2): 濃度檢品 / 溴化鉀(KBr) 1 : 100。

1755.22 cm<sup>-1</sup> 強的吸收峰線歸屬於 C=O 的伸展吸收。

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO- *d*<sub>6</sub>, 200 MHz)δ(ppm)

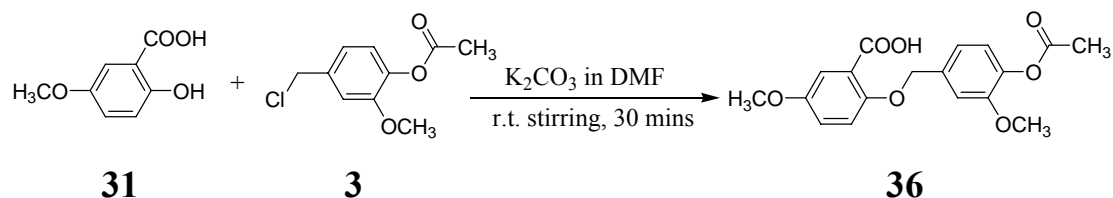
2.213(3H, s), 3.742-3.751(6H), 5.293(2H, s), 6.449-6.510(2H, m), 7.025-7.091(2H, m), 7.213(1H, s), 7.696-7.743(1H, d, J=Hz), 10.727(1H)

<sup>13</sup>C-NMR (DMSO- *d*<sub>6</sub>, 50 MHz)δ(ppm)

20.822, 56.071, 56.255, 66.400, 101.417, 105.739, 107.984, 113.183, 120.712, 123.339, 131.973, 135.042, 139.609, 151.266, 163.195, 165.780, 168.984, 169.119。

## 化合物 5-methoxy 2-[(4-Acetoxy-3-methoxy)benzyloxy] benzoic acid]

### (36)的製備



抽氣櫃操作。室溫，稱取原料灰白色固體 5-methoxy-2-hydroxy-benzoic acid 1.68g (0.01Mole ; C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>, 168 g/ mole)溶於含二甲醯胺(DMF)20 毫升的雙頸瓶(DMF 低於 12ml 會有相近於產物的雜質出現)，加入白色顆粒的無水碳酸鉀 138.21 克(0.01 Mole ; 138.21g/mole)與白色顆粒的碘化鉀 166 克(0.01 Mole ; 166.0g/mole)與 4-acetoxy-3-methoxy-benzyl chloride 214.65 克(0.01 Mole ; C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>O<sub>3</sub> 214.65 g/mole)，反應液轉褐色成黃白色懸浮液，反應液伴以磁石攪拌 30 分鐘，停止反應。加入蒸餾水 50ml，立即沉澱，靜置 10 分鐘，過濾，丙酮洗之，得灰色粗產物。乙醇(10ml)做再結晶，加正己烷(15ml)至澄清溶液，過濾取得透明無色結晶。乾燥，稱重 1.82 克，產率 52.55 %。熔點 53–55 °C。得產物 5-methoxy 2-[(4-Acetoxy-3-methoxy benzyloxy)benzoic acid](C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>O<sub>7</sub> Mol. Wt.: 346.33)。Check TLC 溶媒系統同 34。測圖譜，數據如下：



化合物 36 的各項光譜數據如下：

UV :  $\lambda_{\max}$  (CH<sub>3</sub>OH)nm(log $\epsilon$ ) : 261.5(3.81)

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO- *d*<sub>6</sub>, 200 MHz) $\delta$ (ppm)

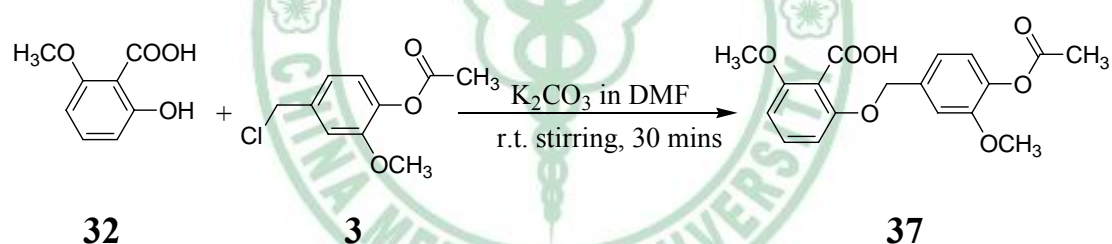
2.208(3H, s), 3.669(3H, s), 3.741(3H, s), 5.329(2H, s), 6.850-7.340(6H, m, Ar-H), 10.095(1H, s)

<sup>13</sup>C-NMR (DMSO- *d*<sub>6</sub>, 50 MHz) $\delta$ (ppm)

20.836, 56.031, 56.252, 66.645, 112.915, 113.046, 113.403, 119.047, 120.256, 123.346, 123.696, 135.038, 139.560, 151.256, 152.151, 154.698, 168.633, 168.985

化合物 6-methoxy 2-[(4-Acetoxy-3-methoxy benzyloxy)benzoic acid

(37)的製備



抽氣櫃操作。室溫，稱取原料灰白色固體 6-methoxy-2-hydroxybenzoic acid 1.68g (0.01Mole ; C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>, 168 g/ mole) 溶於含二甲醯胺 (DMF) 10-15 毫升的雙頸瓶 (DMF 低於 12ml 會有相近於產物的雜質出現)，加入白色顆粒的無水碳酸鉀 138.21 克 (0.01 Mole ; 138.21g/mole) 與白色顆粒的碘化鉀 166 克 (0.01 Mole ; 166.0g/mole) 及 4-acetoxy-3-methoxy-benzyl chloride 214.65 克 (0.01 Mole ; C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>O<sub>3</sub> 214.65 g/mole)，反應液由褐色轉成黃白色懸浮液，以磁石攪拌 30 分

鐘，停止反應。將反應液於含水(500ml)與以二氯甲烷(200ml)的混合溶液，轉動混合，將反應液倒入分液漏斗，取二氯甲烷層，減壓濃縮，得褐色溶液。進行管柱層析 Column D.S. ( *n*-Hexane 900ml + CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 25ml; silica gel 70-230 mesh; 管柱內徑 3cm/長度 20cm/填充 15cm; R<sub>f</sub> = 0.25; 效果很好)。乾燥，稱重 1.67 克，產率 52.79 %。熔點 44–45 °C。產物 6-methoxy 2-[(4-Acetoxy-3-methoxy benzyloxy)benzoic acid] (C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>O<sub>7</sub>; 346.33)。Check TLC development solvent 同 35。測圖譜數據如下：

化合物 37 的各項光譜數據如下：

UV : λ max (CH<sub>3</sub>OH)nm(logε) : 261.6(3.82)

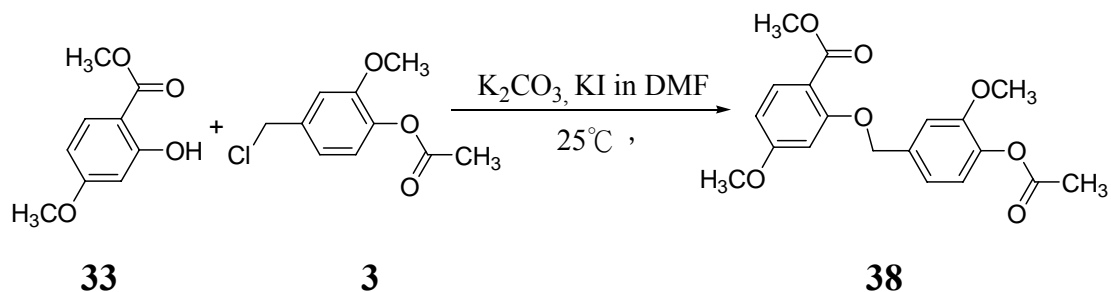
<sup>1</sup>H-NMR(DMSO- *d*<sub>6</sub>, 200 MHz)δ(ppm)

2.205 (3H, s), 3.686 (3H,s), 5.728 (3H, s), 5.229 (2H, s), 6.447-6.496 (2H, m), 6.967-7.195(4H, m), 9.987(1H, s).

<sup>13</sup>C-NMR (DMSO- *d*<sub>6</sub>, 50 MHz)δ(ppm)

20.837, 56.185(2C), 65.815, 102.534, 108.988, 11.340, 112.344, 119.985, 123.111, 131.610, 135.684, 139.223, 151.156, 155.917, 157.696, 166,441, 168.983

化合物 Methyl 2-(4-acetoxy-3-methoxy benzyloxy) 4-methoxy benzoate (38)的製備



抽氣櫃操作。室溫，稱取化合物白色粉末 Methyl 2-hydroxy-5-methoxy-benzoate 1.82 克 (1mMole ;  $C_9H_{10}O_4$  182.17g/mole) 溶於含 DMF(25ml) 的圓底瓶(200ml)，加入無水碳酸鉀 1.38 克(0.01 Mole ; 138.21g/mole) 與白色顆粒的無水碘化鉀 1.66 克(0.01 Mole ; 166.00g/mole) ，伴以磁石攪拌呈無色懸浮液，加入 4-acetoxy-3-methoxy-benzyl chloride 2.14 克(1 mMole ;  $C_{10}H_{11}O_3$  214.65 g/mole) 得得灰色懸浮溶液， 2 小時後停止反應。將反應液於含水(500ml) 與以二氯甲烷(200ml) 的混合溶液，轉動混合，將反應液倒入分液漏斗，取二氯甲烷層，減壓濃縮，得褐色溶液。萃取，以乙醚及蒸餾水為萃取配對溶媒(1 : 5)，取乙醚層，減壓濃縮。再結晶溶媒為二氯甲烷 15ml。靜置 3 天，得白色絮狀結晶化合物。稱重，乾燥，1.81 克，產率 50.2%。熔點  $75-76^\circ C$ 。Methyl 2-(4-acetoxy-3-methoxy benzyl oxy) 4-methoxy benzoate ( $C_{19}H_{20}O_7$  Mol. Wt.: 360.4 )。Check TLC(  $R_f = 0.52$  ; 原料 in THF ; Check TLC<sub>development solvent</sub> 同 35 )。

**化合物 38** 的各項光譜數據如下：

質譜(EIMS ; 70ev ;  $m/z$ ) (圖 38-1)

分子離子峰(  $m / z$  361.0 ,  $M^+$  )符合結構分子式  $C_{19}H_{20}O_7$  的分子量。

UV :  $\lambda_{\max}$  (CH<sub>3</sub>OH)nm(log $\epsilon$ ) : 255(3.98)

紅外光譜(IR)  $\nu$  (KBr) cm<sup>-1</sup> (38-2) : 濃度檢品 / 溴化鉀(KBr) 1 : 100 。

1758.19 cm<sup>-1</sup> 強的吸收峰線歸屬於 C=O 的伸展吸收。

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO- *d*<sub>6</sub>, 200 MHz) $\delta$ (ppm)

2.221 (3H, s), 3.770 (9H, s), 5.149 (2H, s), 6.532~6.708 (2H, m),

7.066(2H, s), 7.317(1H, s), 7.698-7.741(1H, d, J=8.6Hz) 。

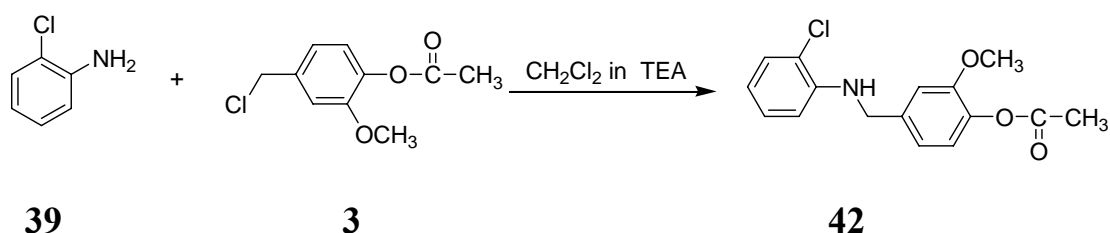
<sup>13</sup>C-NMR (DMSO- *d*<sub>6</sub>, 50 MHz) $\delta$ (ppm)

20.719, 51.845, 55.913, 56.071, 69.670, 100.769, 106.133, 111.747,

112.569, 119.205, 123.088, 133.595, 136.351, 139.052, 151.239, 160.006,

164.291, 165.752, 169.027 。

**化合物 2-chloro-(4-acetoxy-3-methoxy benzylamine) benzene(42) 製備**



室溫，稱取澄明液體 2-chloroaniline 1.27 克(0.01Mole ; C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>ClN

127.57g/mol)溶於含二氯甲烷 50 毫升的圓底瓶(100ml)，加入液體

4-acetoxy-3-methoxy benzylchloride 1.07 克(0.005mMole ; C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>ClO<sub>3</sub>

214.65g/mole)，以磁石攪拌 10 分鐘有白色沉澱析出，以磁石攪拌 2

小時，停止反應，取出磁石，加入澄明液體三乙胺 0.500 克 (Triethylamine ; C<sub>6</sub>H<sub>15</sub>N ; 0.005Mole ; 101.90g/mole)，使其轉成澄明溶液，靜置 24-48 小時，待二氯甲烷慢慢揮發至透明針狀結晶析出，過濾，丙酮洗之，取白色針狀濾質，乾燥，稱重 1.67 克，產率 52.79 %。熔點 92.4–92.8 °C。產物 2-chloro-(4-acetoxy -3-methoxy benzyl amino) benzene (C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>ClNO<sub>3</sub> 305.76 g/mole)。 (Check TLC 展開液 EA in *n*-Hexane : 0.1 in 1ml ; R<sub>f</sub> = 0.21 ; 5cm in 2cm×6cm)。圖譜鑑定，數據如下：

化合物 42 的各項光譜數據如下：

UV :  $\lambda$  max (CH<sub>3</sub>OH)nm(log  $\epsilon$ ) : 300(3.08)

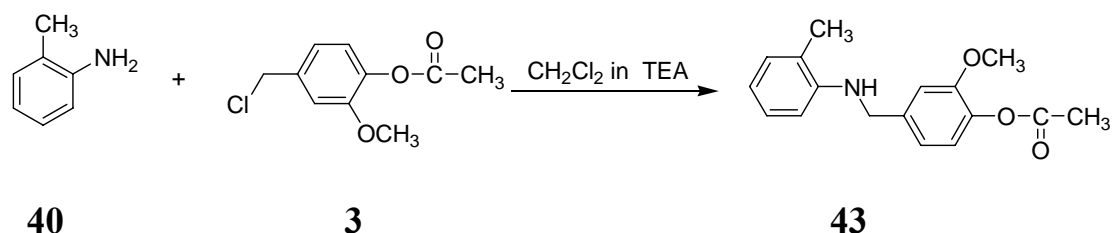
<sup>1</sup>H-NMR(DMSO- *d*<sub>6</sub>, 200 MHz) $\delta$ (ppm)

2.181(3H,s), 3.692(3H,s), 4.340(2H,s), 6.509-6.571(2H,m), 6.859-7.222 (5H, m)

<sup>13</sup>C-NMR (DMSO- *d*<sub>6</sub>, 50 MHz) $\delta$ (ppm)

20.834, 46.284, 56.091, 111.834, 112.184, 117.075, 118.318, 119.007, 122.988, 128.319, 129.422, 138.402, 139.242, 144.293, 151.155, 169.047

### 化合物 2-methyl-(4-acetoxy-3-methoxy benzylamine)benzene(43) 製備



室溫，稱取澄明液體 2-methylaniline 1.07 克(0.01Mole； $\text{C}_7\text{H}_9\text{N}$  107.15g/mol e)溶於含二氯甲烷 50 毫升的圓底瓶(100ml)，加入液體 4-acetoxy-3-methoxy benzylchloride 1.07 克(0.005mMole； $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{ClO}_3$  214.65g/mole)，以磁石攪拌 10 分鐘有白色沉澱析出，以磁石攪拌 2 小時，停止反應，取出磁石，加入澄明液體三乙胺 0.500 克 (Triethylamine； $\text{C}_6\text{H}_{15}\text{N}$ ；0.005Mole；101.90g/mole)，使其轉成澄明溶液，靜置 24-48 小時，待二氯甲烷慢慢揮發至透明針狀結晶析出，過濾，丙酮洗之，取白色針狀濾質，乾燥，稱重 1.67 克，產率 52.79%。熔點 77-78 °C。產物 2-methyl-(4-acetoxy-3-methoxy benzyl amino) benzene ( $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_3$  285.34 g/mole)。(Check TLC 展開液 EA in *n*-Hexane：0.1 in 1ml； $R_f = 0.21$ ；5cm in 2cm×6cm)。圖譜鑑定，數據如下：

化合物 43 的各項光譜數據如下：

質譜(EIMS；70ev； $m/z$ ) (圖 43-1)

分子離子峰( $m/z$  285.0， $\text{M}^+$ )符合結構分子式  $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_3$  的分子量。

UV :  $\lambda_{\max}$  (CH<sub>3</sub>OH)nm(log  $\epsilon$ ) : 最大吸收在 296.8(2.76)。

紅外光譜(IR)  $\nu$  (KBr) cm<sup>-1</sup> (43-2) : 濃度檢品 / 溴化鉀(KBr) 1 : 100。

1749.44 cm<sup>-1</sup> 強的吸收峰線歸屬於 C=O 的伸展吸收。

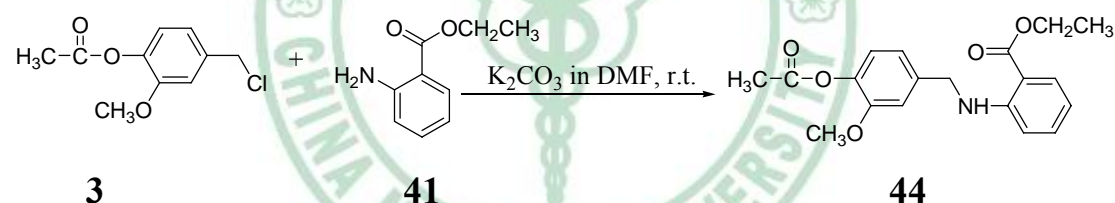
<sup>1</sup>H-NMR(DMSO- *d*<sub>6</sub>, 200 MHz) $\delta$ (ppm)

2.127(3H, s), 2.187(3H, s), 3.70093H, s), 4.280-4.310(2H, d, *J*=6Hz),  
5.553(1H, m), 6.360-6.475(2H, m), 6.843-6.970(4H, m), 7.114(1H, s).

<sup>13</sup>C-NMR (DMSO- *d*<sub>6</sub>, 50 MHz) $\delta$ (ppm)

18.229, 20.831, 46.690, 56.067, 110.077, 111.836, 116.270, 119.113,  
122.264, 122.863, 127.060, 130.182, 138.300, 140.031, 146.570, 151.129,  
169.072。

化合物 Ethyl 2-(4-acetoxy-3-methoxybenzylamine) benzoate (43) 製備



室溫，稱取無色透明液體 Ethyl anthranilate 1.65 克(Ethyl 2-amino-benzoate ; 0.01 Mole ; C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub> 165.19g/mole ; UV Short wave 呈藍色螢光)溶於含 DMF 25 毫升的圓底瓶(300ml)，加入無水碳酸鉀 1.38 克(0.1mMole ; 138.21g/mole ; reagent grade K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)與碘化鉀 1.66 克(0.01Mole ; 166.00g/mole ; reagent grade KI )與白色顆粒 4-acetoxy-3-methoxy-benzyl chloride 1.82 克(0.085 Mole ; C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>O<sub>3</sub> 214.65 g/mole ; 迫使完全反應以利析出)，以磁石強力攪拌，加熱至 90°C，無色澄明

懸浮液轉成褐色懸浮液，40 分鐘，TLC 片偵測反應完全，停止加熱，繼續攪拌，降至室溫。反應液倒入含二氯甲烷的水溶液(500ml in 1200ml)梨形瓶，輕輕振搖，靜置，取褐色澄明的二氯甲烷層，減壓濃縮，得褐色固體。加入乙醇 20 毫升，靜置 24 小時，固體析出，過濾，取濾質，甲醇洗之。二氯甲烷做再結晶，靜置，析出，過濾，丙酮或乙醇洗之，取白色針狀濾質，乾燥，稱重 1.67 克，產率 48.63%，熔點 90–91 °C。得產物 Ethyl 2-(4-acetoxy-3-methoxy benzylamine) benzoate(C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>5</sub>; 343.37)。

化合物 43 的各項光譜數據如下：

質譜(EIMS; 70eV; *m/z*) (圖 44-1)

分子離子峰(*m/z* 343.9, M<sup>+</sup>)符合結構分子式 C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>5</sub> 的分子量。

UV: λ<sub>max</sub> (CH<sub>3</sub>OH)nm(log ε): 346(4.05)

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 200 MHz)δ(ppm):

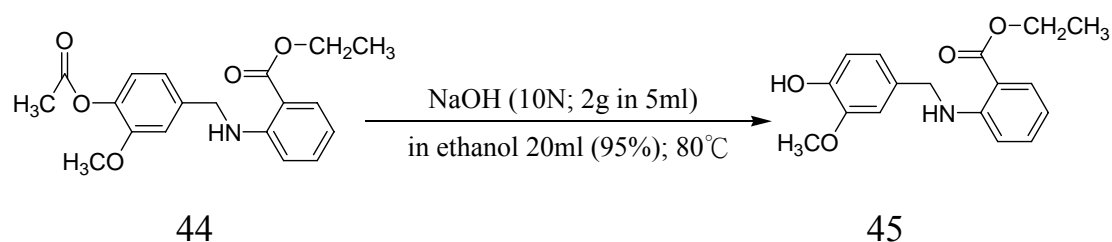
1.224-1.295 (3H, *t*), 2.198 (3H, *s*, H-4'-OCOCH<sub>3</sub>), 3.708 (3H, *s*, 2-OCH<sub>3</sub>), 4.174-4.280 (2H, *dd*, *J*=7.04Hz, *J*=7.01Hz, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.408 (2H, *d*, *J*=5.72, -NH-CH<sub>2</sub>-), 6.516~7.305 (6H, *m*), 7.768-7.815 (1H, *d*), 8.081 (1H, *t*).

<sup>13</sup>C-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 200 MHz)δ(ppm):

14.595, 20.815, 46.206, 56.121, 60.558, 110.161, 112.125, 112.357, 115.210, 119.237, 113.221, 131.574, 135.118, 138.677, 150.853, 151.284, 168.204, 169.023



## 化合物 ethyl 2-(4-hydroxy-3-methoxy benzylamino)benzoate (45) 製備



室溫，稱取白色 2-(4-acetoxy-3-methoxy benzylamino)benzoate 結晶 3.27 克(0.01 Mole；C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub> 327.19g/mole；UV Short/long wave 呈藍色螢光)置於含乙醇 20 毫升的圓底瓶(100ml)，加入氫氧化鈉的水溶液 10N(氫氧化鈉 2.0g 溶於蒸餾水 5ml；0.05Mole)成黃色懸浮液，加熱迴流(80°C)，30 分鐘，減壓濃縮，得黃色固體。加水，靜置，沉澱，過濾並以蒸餾水洗之，得白色沉澱。以甲醇做再結晶，靜置，析出，過濾，乙醇洗之，取白色針狀濾質，乾燥，稱重 1.67 克，產率 1.81 %。熔點 161-162 °C。產物 2-(4-hydroxy-3-methoxy benzyl amine) benzoic acid。(C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub>； 301.3 g / mole)。Check TLC ( ethanol in CHCl<sub>3</sub> 0.1ml in 2ml)。

化合物 45 的各項光譜數據如下：

UV：λ max (CH<sub>3</sub>OH)nm(log ε)：434.5(2.09)

紅外光譜(IR)ν (KBr) cm<sup>-1</sup> (圖 45-1)：濃度檢品/溴化鉀(KBr) 1：100。

1658.78 cm<sup>-1</sup> 強的吸收峰線歸屬於 C=O 的伸展吸收。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO- d<sub>6</sub>, 200 MHz)δ(ppm) (圖 45-2)：

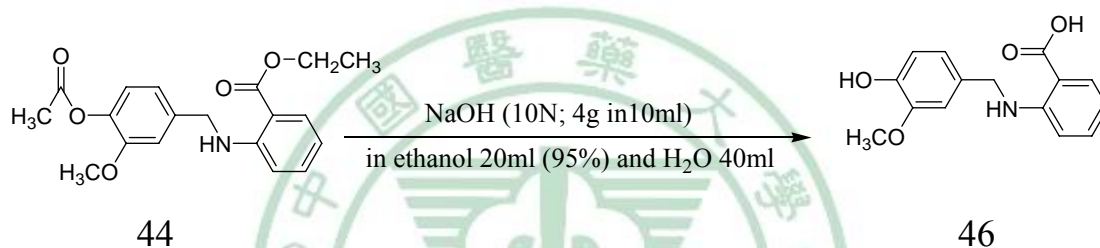
1.227-1.293 (3H, t), 2.196 (3H, s, H-4'-OCOCH<sub>3</sub>), 3.706 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>),

4.172-4.278 (2H, dd,  $J=7.06\text{Hz}$ ,  $J=7.08\text{Hz}$ ,  $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 4.407 (2H,  $d$ ,  $J=5.74$ ,  $-\text{NH}-\text{CH}_2-$ ), 6.517~7.303 (6H,  $m$ ), 7.766-7.813 (1H,  $d$ ), 8.081 (1H,  $t$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR(DMSO-  $d_6$ , 200 MHz) $\delta$ (ppm) (圖 45-3)

14.595, 20.813, 46.201, 56.113, 60.560, 110.152, 112.235, 115.212, 119.233, 123.223, 131.576, 135.124, 138.684, 150.853, 151.285, 168.205, 169.032

### 化合物 2-(4-hydroxy-3-methoxy benzylamino) benzoic acid(46)製備



室溫，稱取白色 2-(4-acetoxy-3-methoxy benzylamine)benzoate 結晶 3.27 克(0.01 Mole ; C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub> 327.19g/mole ; UV Short/long wave 呈藍色螢光；可溶於水)置於含乙醇(20ml)與蒸餾水(40ml)的圓底瓶 (300ml)，加入氫氧化鈉的水溶液 10N(氫氧化鈉 4.0g 溶於蒸餾水 10ml ; 0.1Mole)成白色懸浮液，加熱迴流(110°C)，反應液轉成褐色澄明溶液，30 分鐘，TLC 片偵測反應完全，停止加熱，降至室溫。減壓濃縮完全除去乙醇及水分，得白色固體，加入冰塊 100ml(0°C)，再以冰的濃鹽酸(37% ; 5ml)蒸餾水(45ml)溶液，隨之振搖，共加入 15ml (pH =6-7)，白色沉澱析出，過濾(3-4 層濾紙可除去褐色溶液)。甲醇為再結晶液，靜置，析出，過濾，乙醇洗之，取白色針狀濾質，乾燥，

稱重 1.67 克，產率 55.35 %。產物 2-(4-hydroxy-3-methoxy benzylamine) benzoic acid ( $C_{17}H_{19}NO_4$  ; 301.3 g/mole)。熔點 92.4 – 92.8 °C。Check TLC ( $R_f = 0.5$  ; 原料 in THF ; TLC<sub>DS</sub>: ethanol in Chloroform : 0.1ml + 10ml)。

化合物 46 的各項光譜數據如下：

UV :  $\lambda_{max}$  (CH<sub>3</sub>OH)nm(log  $\epsilon$ ) : 最大吸收在 346.0(3.82)。

紅外光譜(IR)  $\nu$  (KBr)  $cm^{-1}$  (34-2) : 濃度檢品 / 溴化鉀(KBr) 1 : 100。

1672.28  $cm^{-1}$  強的吸收峰線歸屬於 C=O 的伸展吸收。

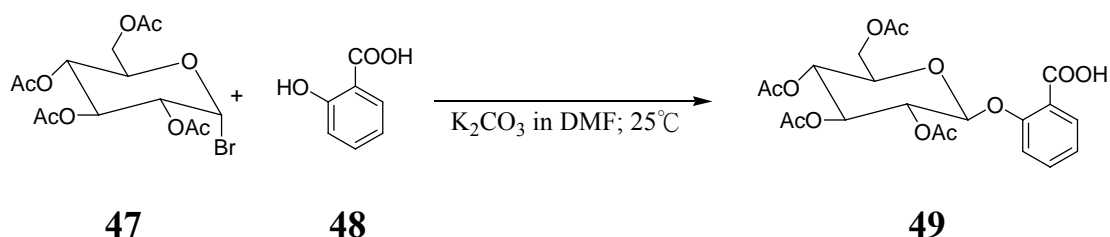
<sup>1</sup>H NMR (DMSO- *d*<sub>6</sub>, 200 MHz)  $\delta$ (ppm) :

3.692 (3H, *s*, -OCH<sub>3</sub>), 4.249 (2H, *s*, -NH-CH<sub>2</sub>-), 6.474-6.699(5H, *m*), 6.891(1H, *s*), 7.235-7.313(1H, *t*), 7.737-7.777(1H, *d*, *J*=Hz), 8.875(1H, *s*, NH)

<sup>13</sup>C NMR(DMSO- *d*<sub>6</sub>, 200 MHz)  $\delta$ (ppm)

46.413, 55.973, 110.540, 112.031, 112.124, 114.825, 115.888, 120.050, 130.282, 132.083, 134.848, 146.004, 148.082, 151.186, 170.471

化合物 2-( $\alpha$ -D-acetyl-Glucose) benzoic acid(**49**) 製備



室溫，稱取白色顆粒 2-hydroxy benzoic acid 1.38 克 (0.01Mole ;

C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub> ; 138.1g/mole)溶於含 DMF( 25ml)的圓底瓶(50ml)，加入白色

顆粒的無水碳酸鉀 1.38 克(0.01 Mole ; 138.21g/mole)與白色顆粒的無水碘化鉀 1.66 克(0.01 Mole ; 166.00g/mole), 磁石攪拌成白色懸浮液, 加入 Acetobromo- $\alpha$ -D-glucose 8.22 克(0.02 Mole ; 411.22 g/mole ; 純度 97%), 磁石攪拌 6 小時, 加入冰的蒸餾水(200ml), 靜置, 沉澱, 過濾, 取濾質。甲醇為再結晶液, 靜置, 析出, 過濾, 乙醇洗之, 取白色針狀濾質, 乾燥, 稱重 3.67 克, 產率 75.81 %。熔點 192.5 – 193 °C。得產物 2-( $\alpha$ -D-acetyl-Glucose) benzoic acid (C<sub>22</sub>H<sub>26</sub> O<sub>13</sub> ; 467 g/mole)。Check TLC( R<sub>f</sub> = 0.52 ; 原料 in THF ; TLC developing solvent: *n*-Hexane 1.5ml + EtOAc 0.5ml。測圖譜, 數據如下:

化合物 49 的各項光譜數據如下:

質譜(EIMS ; 70ev ; *m/z*) (圖 49-1)

此分子屬於醜類, 通常看不見到分子離子峰(*m/z* 467, M<sup>+</sup>)。由於化合物屬於 Acetyl- $\alpha$ -D- glucoside, 糖類分子上具有 4 個乙醯基, 通常在質譜上進行脫去醋酸分子是常態, 所以可以見到 *m/z* 271、211、169.1、109.1 等峰線。基峰線(*m/z* 43.1, M<sup>+</sup> ; 100%)為歸屬於(CH<sub>3</sub>C≡O<sup>+</sup>)的斷裂。

UV :  $\lambda$  max (CH<sub>3</sub>OH)nm(log $\epsilon$ ) : 最大吸收在 313.5(3.29)。

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO- *d*<sub>6</sub>, 200 MHz) $\delta$ (ppm) (圖 49-2)

1.974-2.054 (12H, s, 2', 3', 4', 6'-OCOCH<sub>3</sub>), 4.128-4.272(3H,m), 5.160-5.338 (4H, m), 5.859-5.899(2H, m), 6.875-6.968(2H, m), 7.465(1H,

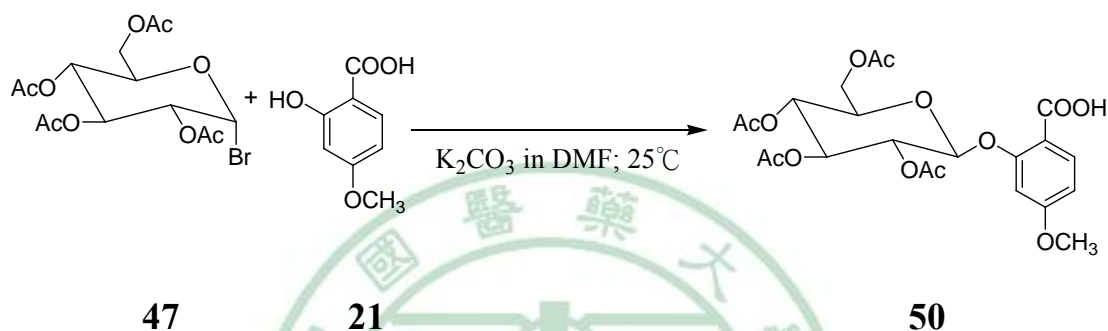
m), 7.751-7.800(1H, m), 10.21(1H, s)。

$^{13}\text{C}$ -NMR (DMSO- $d_6$ , 50 MHz) $\delta$ (ppm) (圖 49-3)

20.57(4C), 61.38, 67.76, 69.92, 72.46, 72.82, 92.25, 111.04, 117.69,

119.74, 130.36, 136.85, 162.08, 168.18, 169.29, 169.40, 170.07, 170.59。

### 化合物 2-(acetyl-Glucose)-4-methoxy benzoic acid(50)製備



室溫，稱取白色粉末 2-hydroxy-4-methoxy benzoic acid 1.68 克 (0.01Mole ;  $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$  ; 168.15 g/mole) 溶於含 DMF( 25ml) 的圓底瓶 (50ml)，加入白色顆粒的無水碳酸鉀 1.38 克 (0.01 Mole ; 138.21g/mole) 與白色顆粒的無水碘化鉀 1.66 克 (0.01 Mole ; 166.00g/mole)，磁石攪拌成無色澄明懸浮液，加入 Acetobromo- $\alpha$ -D-glucose 8.22 克 (0.02 Mole ; 411.22 g/mole ; 純度 97%)，磁石攪拌 6 小時呈灰色懸浮液，停止反應，加入冰的蒸餾水(200ml)，靜置，沉澱，過濾，取濾質。甲醇為再結晶液，靜置，析出，過濾，乙醇洗之，取白色針狀濾質，乾燥，稱重 3.35 克，產率 67.26 %。得 2-( $\alpha$ -D-acetyl-Glucose)-4 -methoxy benzoic acid ( $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_{13}$  ; 498 g/mole)。熔點  $136.7 - 146.5^\circ\text{C}$ 。Check TLC(  $R_f = ?$  ; 原料 in THF ; TLC developing solvent: *n*-Hexane 1.5ml

+ EtOAc 0.5ml。

化合物 50 的各項光譜數據如下：

質譜(EIMS；70ev； $m/z$ ) (圖 50-1)

此分子屬於醚類，通常看不見到分子離子峰( $m/z$  498,  $M^+$ )。由於化合物屬於 Acetyl- $\alpha$ -D- glucoside，糖類分子上具有 4 個乙醯基，通常在質譜上進行脫去醋酸分子是常態，所以可以見到  $m/z$  270.9、211.0、169.0、109.0 等峰線。基峰線( $m/z$  43.1,  $M^+$ ；100%)為歸屬於( $CH_3C \equiv O^+$ )的斷裂。

UV： $\lambda$  max (CH<sub>3</sub>OH)nm(log $\epsilon$ )：346.0(3.54)

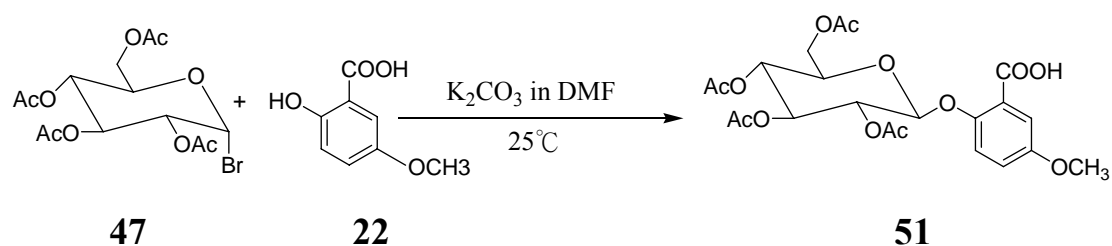
<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 200 MHz) $\delta$ (ppm) (圖 50-2)

1.932-2.009 (12H, s, 2', 3', 4', 6'-OCOCH<sub>3</sub>), 3.755 -4.242 (4H, m),  
5.122-5.295(3H, m), 5.810-5.851(1H, m), 6.365-6.416(2H, m),  
7.615-7.662(1H, m), 10.34(1H, s)。

<sup>13</sup>C-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 50 MHz) $\delta$ (ppm) (圖 50-3)

20.538(4C), 55.546, 61.390, 67.798, 69.951, 72.463, 72.724, 92.010,  
100.729, 104.004, 108.188, 131.776, 164.396, 166.529, 167.842, 169.276,  
169.388, 170.028, 170.551。

### 化合物 2-( $\alpha$ -D-acetylglucose)-5-methoxy benzoic acid(51)的製備



室溫，稱取褐色粉末 2-hydroxy-5-methoxy benzoic acid 1.68 克 (0.01Mole ;  $C_8H_8 O_4$  ; 168.15 g/mole) 溶於含 DMF( 25ml) 的圓底瓶 (50ml)，加入白色顆粒的無水碳酸鉀 1.38 克 (0.01 Mole ; 138.21g/mole) 與白色顆粒的無水碘化鉀 1.66 克 (0.01 Mole ; 166.00g/mole)，磁石攪拌成咖啡色澄明懸浮液，加入 Acetobromo- $\alpha$ -D-glucose 8.22 克 (0.02 Mole ; 411.22 g/mole ; 純度 97%)，磁石攪拌 6 小時，停止反應，加入冰的蒸餾水(200ml)，靜置，沉澱，過濾，取濾質。甲醇為再結晶液，靜置，析出，過濾，乙醇洗之，取白色針狀濾質，乾燥，稱重 2.98 克，產率 59.81 %，得產物 2-( $\alpha$ -D-acetyl-Glucose)-5-methoxy benzoic acid ( $C_{22}H_{26} O_{13}$  ; 498 g/mole)。熔點  $157.7 - 157.5^\circ C$ 。Check TLC(  $R_f=0.52$  ; 原料 in THF ; TLC developing solvent: *n*-Hexane 1.5ml + EtOAc 0.5ml )。

化合物 51 的各項光譜數據如下：

質譜(EIMS ; 70ev ;  $m/z$ ) (圖 51-1)

此分子屬於醜類，通常看不見到分子離子峰(  $m/z$  498 ,  $M^+$  )。由於化

合物屬於 Acetyl- $\alpha$ -D- glucoside，糖類分子上具有 4 個乙醯基，通常在質譜上進行脫去醋酸分子是常態，所以可以見到  $m/z$  270.9、210.8、168.9、109.0 等峰線。基峰線( $m/z$  43.1,  $M^+$ ; 100%)為歸屬於( $CH_3C \equiv O^+$ )的斷裂。

UV:  $\lambda_{max}$  ( $CH_3OH$ ) $nm(\log\epsilon)$ : 最大吸收在 345.5(3.54)。

紅外光譜(IR)  $\nu$  (KBr)  $cm^{-1}$  (51-2): 濃度檢品/溴化鉀(KBr) 1:100。

1768.72  $cm^{-1}$  強的吸收峰線歸屬於 C=O 的伸展吸收。

$^1H$ -NMR(DMSO- $d_6$ , 200 MHz) $\delta$ (ppm) (圖 51-3)

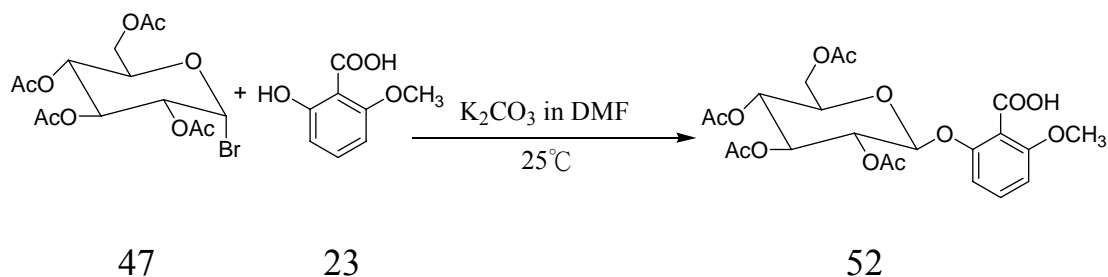
1.960-2.018(12H, m), 3.730(3H, s), 3.945-4.274(3H, m), 5.155-5.329(3H, m), 5.815-5.854(1H, m), 6.837-7.206(3H, m), 9.805(1H, s)。

$^{13}C$ -NMR (DMSO- $d_6$ , 50 MHz) $\delta$ (ppm) (圖 51-4)

20.553(4C), 55.760, 61.365, 67.793, 69.970, 72.299, 72.793, 92.380, 110.362, 111.234, 118.783, 125.845, 152.275, 156.672, 167.877, 169.268, 169.399, 169.993, 170.547。



## 化合物 2-(acetyl-Glucose)-6-methoxy benzoic acid(52)的製備



室溫，稱取白色顆粒 2-hydroxy-6-methoxy benzoic acid 1.68 克 (0.01Mole ;  $\text{C}_8\text{H}_8 \text{O}_4$  ; 168.15 g/mole) 溶於含 DMF( 25ml) 的圓底瓶 (50ml)，加入白色顆粒的無水碳酸鉀 1.38 克(0.01 Mole ; 138.21g/mole) 與白色顆粒的無水碘化鉀 1.66 克(0.01 Mole ; 166.00g/mole)，磁石攪拌成無色澄明懸浮液，加入 Acetobromo- $\alpha$ -D-glucose 8.22 克(0.02 Mole ; 411.22 g/mole ; 純度 97%)，磁石攪拌 6 小時呈灰色懸液，加入冰的蒸餾水(200ml)，靜置，沉澱，過濾，取濾質。甲醇為再結晶液，靜置，析出，過濾，乙醇洗之，取白色針狀濾質，乾燥，稱重 3.12 克，產率 62.65 %，得產物 2-( $\alpha$ -D-acetyl-Glucose)-6-methoxy benzoic acid ( $\text{C}_{22}\text{H}_{26} \text{O}_{13}$  ; 498 g/mole)。熔點  $136.5 - 136.8^{\circ}\text{C}$ 。Check TLC(  $R_f = 0.52$  原料 in THF ; TLC developing solvent: *n*-Hexane 1.5ml + EtOAc 0.5ml)。

化合物 52 的各項光譜數據如下：

質譜(EIMS ; 70ev ;  $m/z$ ) (圖 52-1)

此分子屬於醚類，通常看不見到分子離子峰(  $m/z$  498 ,  $\text{M}^+$  )。由於化

合物屬於 Acetyl- $\alpha$ -D- glucoside，糖類分子上具有 4 個乙醯基，通常在質譜上進行脫去醋酸分子是常態，所以可以見到  $m/z$  270.9、211.0、169.0、109.0 等峰線。基峰線( $m/z$  43.1,  $M^+$ ; 100%)為歸屬於( $CH_3C \equiv O^+$ )的斷裂。

UV :  $\lambda$  max (CH<sub>3</sub>OH)nm(log $\epsilon$ ) : 346.0(3.54)

紅外光譜(IR)  $\nu$  (KBr) cm<sup>-1</sup> (52-2) : 濃度檢品 / 溴化鉀(KBr) 1 : 100。

1755.22 cm<sup>-1</sup> 強的吸收峰線歸屬於 C=O 的伸展吸收。

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO- *d*<sub>6</sub>, 200 MHz) $\delta$ (ppm) (52-3)

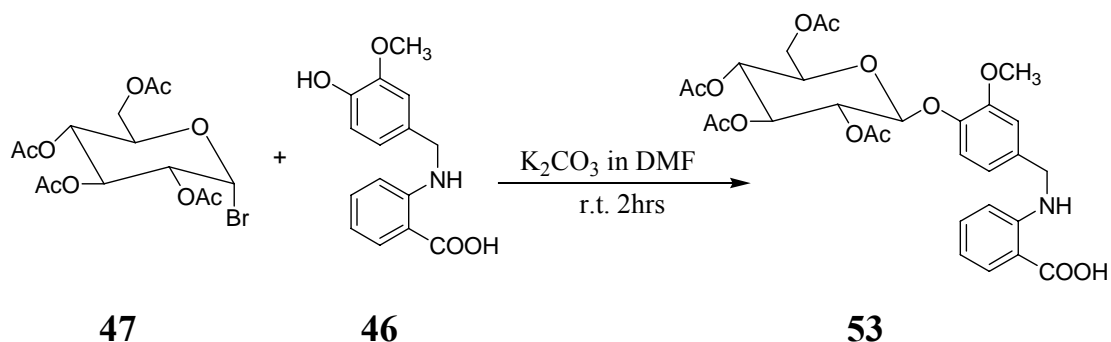
1.966(12H, s), 3.733(3H, s), 3.90-4.265(3H,m), 5.162-5.266(3H, m), 5.869-5.906(1H, m), 6.298-6.503(2H, dd, J=7.6Hz, J=8.4Hz), 7.233-7.317(1H, t, J=8.4Hz), 10.886(1H, s)

<sup>13</sup>C-NMR (DMSO- *d*<sub>6</sub>, 50 MHz) $\delta$ (ppm) (52-4)

20.551(4C), 55.774, 61.528, 67.675, 70.115, 72.693, 72.843, 92.053, 102.072, 109.739, 136.201, 161.376, 163.790, 169.098-170.563(5C=O)

## 化合物 2-[(3-methoxy benzylamino-4- $\alpha$ -acetyl-Glucose)] benzoic acid

### (52) 的製備



室溫，稱取白色粉末 2-(4-hydroxy-3-methoxybenzylamino)benzoic acid 2.73 克 (0.01Mole;  $C_{15}H_{15}NO_4$ ; 273.282g/mole; 瑩光) 溶於含 DMF 25ml 的圓底瓶(125ml) 並置乾燥管，加入白色顆粒的無水碳酸鉀 1.38 克 (0.01 Mole ; 138.21g/mole) 與白色顆粒的無水碘化鉀 1.66 克 (0.01 Mole ; 166.00g/mole) 及灰色粉末 Acetobromo- $\alpha$ -D-glucose 3.2 克 (0.008 Mole ; 411.22 g/mole ; 純度 97%)，磁石強力攪拌，黃色懸浮液轉成白色懸浮液，90 分鐘，停止反應，取出磁石，冰塊 50ml，靜置 20 分鐘，白色固體沉澱，過濾，取濾質，甲醇為再結晶液，靜置，析出，過濾，乙醇洗之，取白色針狀濾質，乾燥，稱重 3.34 克，產率 55.38 %，得產物 2-[(3-methoxy benzylamino-4-acetyl- Glucose)] benzoic acid ( $C_{29}H_{33}NO_{13}$  ; 603.57 g/mole)。熔點 153.6 – 154.2  $^{\circ}C$ 。

化合物 53 的各項光譜數據如下：

### 質譜(EIMS ; 70ev ; $m/z$ ) (圖 53-1)

分子離子峰(  $m/z$  602.8 ,  $M^+$  )符合結構分子式  $C_{29}H_{33}NO_{13}$  分子量。本化合物屬於 Acetyl- $\alpha$ -D- glucoside , 糖類分子上具有 4 個乙醯基 , 通常在質譜上進行脫去醋酸分子(M-60)是常態 , 所以可以見到  $m/z$  273.、211、109 等峰線。基峰線(  $m/z$  43.1 ,  $M^+$  ; 100%)為歸屬( $CH_3C \equiv O^+$ )峰線的斷裂。

UV :  $\lambda$  max (CH<sub>3</sub>OH)nm(log $\epsilon$ ) : 最大吸收在 346.5(3.62)。

紅外光譜(IR)  $\nu$  (KBr)  $cm^{-1}$  (53-2) : 濃度檢品 / 溴化鉀(KBr) 1 : 100。

1730  $cm^{-1}$ 、1693.50  $cm^{-1}$  歸屬 acetoxy group 與羧酸的羰基(C=O)吸收。

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-  $d_6$ , 200 MHz) $\delta$ (ppm) (53-4)

1.952~1.966, (12H, s, 2'-OCOCH<sub>3</sub>, 3'-OCOCH<sub>3</sub>, 4'-OCOCH<sub>3</sub>, 6'-OCOCH<sub>3</sub>), 3.733 (3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>), 3.85 (1H, *m*, H-4'), 4.01~4.084 (1H, *dd*, H-2'), 4.0202~4.265 (1H, *dd*, H-3'), 5.162~5.266 (3H, *m*, H-5', H-6), 5.869~5.906 (1H, *d*, H-1'), 6.319 (1H, *d*, H-3), 6.482 (1H, *d*, H-5), 7.275 (1H, *t*, H-4), 10.886 (1H, *s*, -COOH)。

<sup>13</sup>C-NMR (DMSO-  $d_6$ , 50 MHz) $\delta$ (ppm)(53-4)

20.551 (2'-OCOCH<sub>3</sub>, 3'-OCOCH<sub>3</sub>, 4'-OCOCH<sub>3</sub>, 6'-OCOCH<sub>3</sub>), 55.774 (6-OCH<sub>3</sub>), 61.528 (C-6'), 67.675 (C-3'), 70.115 (C-4'), 72.693 (C-2'), 72.843 (C-5'), 92.053 (C-1'), 102.072 (C-1), 102.291 (C-5), 109.739 (C-6), 136.201 (C-4), 161.376 (C-2), 163.79 (C-6), 169.098, 169.239, 169.372, 170.059, 170.563 (2'-OCOCH<sub>3</sub>, 3'-OCOCH<sub>3</sub>, 4'-OCOCH<sub>3</sub>, 6'-OCOCH<sub>3</sub>, 1-COOH.)

## 參考文獻

1. Minke E. W. Roach C. Wim G.J. Hol, Christtohppe L. M. J. Verlinde. Structure-based exploration of the ganglioside GM1 binding sites of *Escherichia. coli* Heat-labile enterotoxin and cholera toxin for the discovery of receptor antagonists. *Biochemistry*, 1999, **38**, 5684-5692 .
2. [http://www.who.int/vaccine\\_research/diseases/e\\_e\\_coli/en/](http://www.who.int/vaccine_research/diseases/e_e_coli/en/)
3. 世界衛生組織 <http://www.who.int/topics/cholera/en/>
4. 行政院疾病管制局 <http://www.cdc.gov.tw/>
5. Holmgren J., Fredman P., Lindblad M., Svennerholm A. M. & Svennerholm L.(1982). Rabbit intestinal glycoprotein receptor for *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin lacking affinity for cholera toxin. *Infect. Immun.* 38, 424-433.
6. Anchor-Based Design of Improved Cholera Toxin and *E. coli* Heat-Labile Enterotoxin Receptor Binding Antagonists that Display Multiple Binding Modes. *Chemistry & Biology*, **2002**, Vol. 9, 215–224, February.
7. Merritt E. A., and W. G. J. Hol, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **5**, 165-171(1995).
8. Fan Erkang \*, Ethan A Merritt\*, Christophe LMJ Verlinde\* and Wim GJ Hol\*†AB5 toxins: structures and inhibitor design *Current Opinion in Structural Biology* **2000**, 10:680–686.
9. Lencer W. I., CConstable, More S., Joblin M. G. g, Webb H. M., S. Ruston, J. Madara L., T. R. Hirst, and R. K. Hp;,es, *J. Biol. Chem.* 131, 951-962 (1995).

10. Hirst T. R., in Bacterial toxins & virulence factors in disease (Moss, J., Vaughan, M., Igleweski, B., and Yu, Eds.)pp 123-184, Marcel Dekker, New York (1995).
11. C. A. King, and W.E. Van Henyningen, *J. Infect. Dis.* **127**, 639-647(1973).
12. R. A. Finkelstein, M. Boesman, S. H. Neoh, M. K. LaRue, and R. Delaney, *J. Immunol.* **113**, 145-150 (1974).
13. S. Kassis, J. Hagmann, P. H. Fishman, P. P. Chang, and J. Moss, *J. Biol. Chem.* **257**, 12148-12152 (1982).
14. P. I. H. Bastiaens, I. V. Majoul, P. J. Verveer, H. D. Soling, and T. M. Jovin, *EMBO J.* **15**, 4246-4253 (1996).
15. <http://textbookofbacteriology.net/cholera.html> Todar's Online Textbook of Bacteriology *Vibrio cholerae* and Asiatic Cholera, 2005 Kenneth Todar University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology.
16. M. Field, *Arch. Surg.* 1993, 128, 273-278.
17. B. Hovey T., Verlinde C. L. M. J., Merritt E. A., Hol W. G. J. (1999). Structurebased discovery of a pore-binding ligand: towards assembly inhibitors of choleraand related AB5 toxins. *J. Mol. Biol.* 1999, 285, 1169-1178.
18. 最新圖解藥理學。編校：陳志堯。原者：Mary J. Mycek Richard A. Harvey Pameia C. Champe 合記圖出版社 2004, P. 235-246。
19. Ijaz Ahmad, Sarfraz Ahmad Nawaz, Nighat Afza, Abdul Malik, Itrat Fatima, Sher Bahadar Khan, Manzoor Ajhmad, and Muhammad Iqbal Choudhary. Isolation of Onosmins A and B, Lipoxxygenase Inhibitors

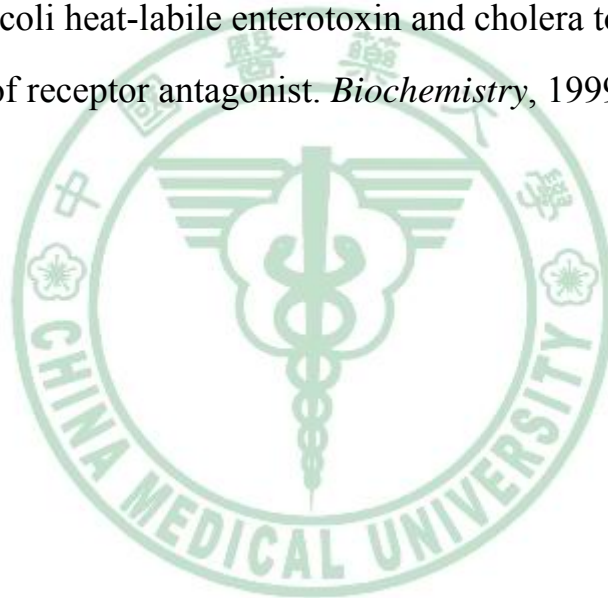
- form *Omosma hispida*. *Chem. Pharm. Bull.* 2005, 53(8) 907-910.
20. Hiroyuki Asakawa, Eiko Imamiya and Yukihiro Hamuro. Chemistry of Salicylic acid and Anthranilic Acid. III. Hypoglycemic Screen Tests for Salicylic and Anthranilic Acid Derivatives. *Chem. Pharm. Bull.* **1979**, 27(6) 1468-1472.
21. Vibha B. Oza, H. Michael Petrassi, Hams E. Purkey and Jeffery W. Kelly. Synthesis and Evaluation of Anthranilic acid-Based Transthyretin Amyloid Fibril Inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 9 (1999) 1-6.
22. Masaichi Hasegawa, Kazuya Takenouchi, Katsushi Takahashi, Takahiro Takeuchi, Keiji Komoriya, Yasuhide Uejima, and Takashi Kamimura. Novel Naphthalene Derivatives as Inhibitors of Human Immunoglobulin E Antibody Production. *J. Med. Chem.* 1997, 40, 395-407.
23. V. JAGODIC and M.J. HERAK. Synthesis and Physical Properties of a Novel Aminophosphonic acid as an Extracting Agent for Metals. *J. inorg. Nucl. Chem.*, 1970, Vol. 32, pp.1323.
24. 有機化學。編著：陳岳鴻。校訂：許延年博士。東華書局印行。1997, P. 366-372。
25. Pretorius J.C. Current Medicinal Chemistry-Anti-Infective Agent Volume 2, Number 4, December 2003, pp. 335-353(19)
26. R. Catgherine, E. 2004, Flavonoids and isoflavones: absorption, metabolism, and bioactivity, *Free Radical Biology and Medicine*, 2004, 36 (7), 827-828.
27. Ming, L.; Xiuwen, H.; Biao, Y.; Synthesis of quercetin 3-O-(2"-

- galloyl- $\alpha$ -L-arabinopyranoside. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 9467-70.
28. Wang, Y.; Li, L.; Wang, Q.; Li, Y. An improved phase transfer catalyzed synthetic method for ononin and rothindin. *Synth. Commun.* 2001, **31**(22), 3423-7.
29. Toshihiro, K.; Takayuki, K.; Shigeru, M.; Shingo, S.; Jun-ichi, O.; Synthesis of 8-C-glucosylflavones. *Carbohydr. Res.* **2001**, , 334,183-93.
30. Kin-ichi, O.; Tadao, K.; Total Synthesis of Flavocommelin, a Component of the Blue Superamolecular Pigment from *Commelina communis*, on the Basis of Direct 6-C-Glycosylation of Flavan. *J. Org. Chem.* 2004, **31**, 5240-46.
31. Fiona Melvin, Alan McNeill, Peter J. F. Henderson and Richard B. Herbert. The Improved Synthesis of  $\beta$ -D-Glucuronides using TEMPO. *Tetrahedron Letter.* 1999, 1201-1202.
32. Carbonylate-substituted phosphines as new ligand for two-phase catalysis-synthesis and application. M. Belle et al, Jurgen G. E. Krauter, Alexander Zapf, Sandra Bogdanovic. *Catalysis Today* 1999, **48**, 279-290.
33. Debaraj Mukherjee, Pradip Kumar Ray and Uday Sankar Chowdhury. Synthesis of glycosides via indium (III) chloride mediated activation of glycosyl halide in neutral condition. *Tetrahedron.* 2001, *57*, 7701-7704.
34. S.A. Berson and R.S. Yalow, "Iodoinsulin Used to Determine Specific Activity of Iodine-131" *Science*, 8:152(3719):205-7, 1966.
35. 林修民，"抗體活染色與其在免疫臨床之應用"，國立中興大學化



學工程系碩士論文，1998。

36. THOMAS WALLE. ABSORPTION AND METABOLISM OF FLAVONOIDS *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 36, No. 7, pp. 829 – 837, 2004
37. Jonh B. Christensen. Improved Preparation of 4-chloromethyl phenyl acetate. *Oppi Briefs*. 1994, Vol **26**, No. 4, (471-2)
38. Wendy E. M. Claudia R., Hol W. G. J. & Christophe L.M. J. Structure-based exploration of the ganglioside GM1binding Site of Esherichia coli heat-labile enterotoxin and cholera toxin for the discovery of receptor antagonist. *Biochemistry*, 1999, **28**, 5684-5692.



附錄(1)分子圖譜

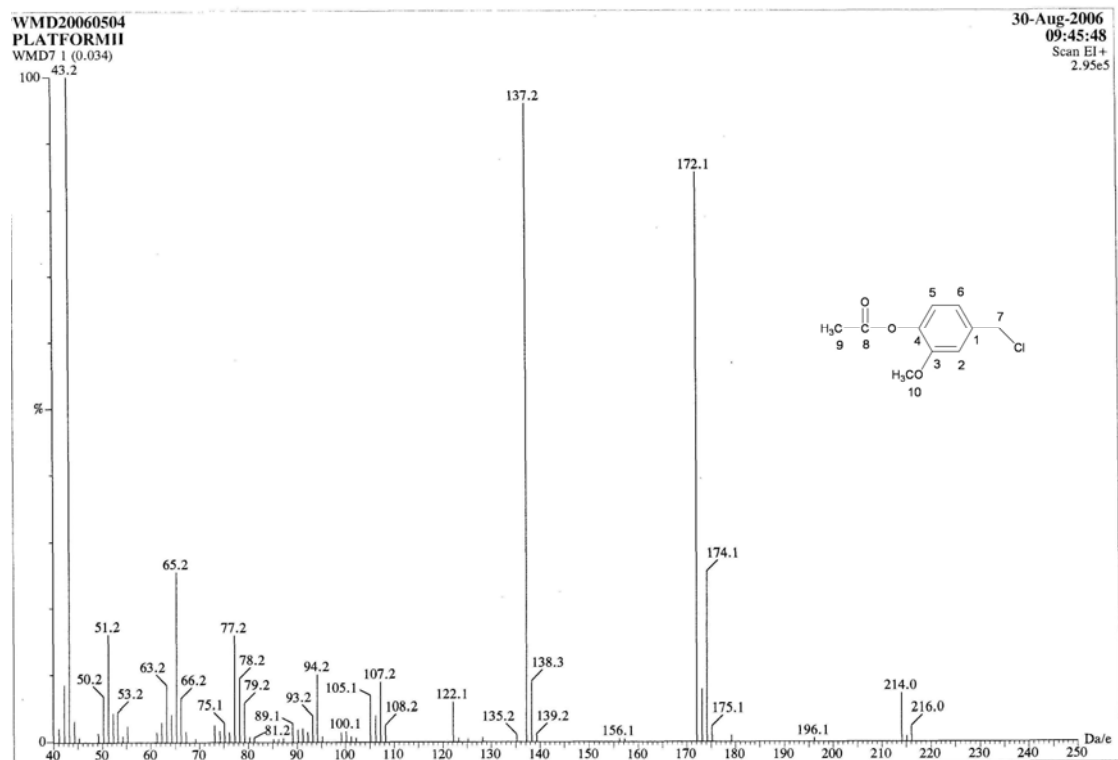


圖 3-1 MS ( EIMS ) spectrum of compound 3

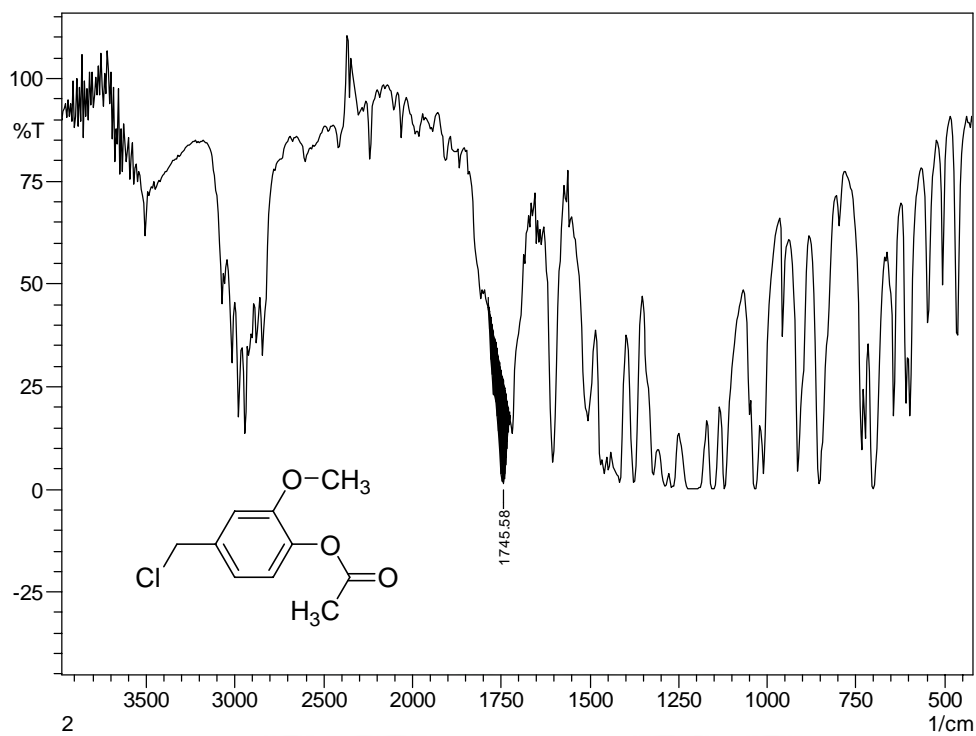


圖 3-2 IR (KBr) spectrum of compound 3

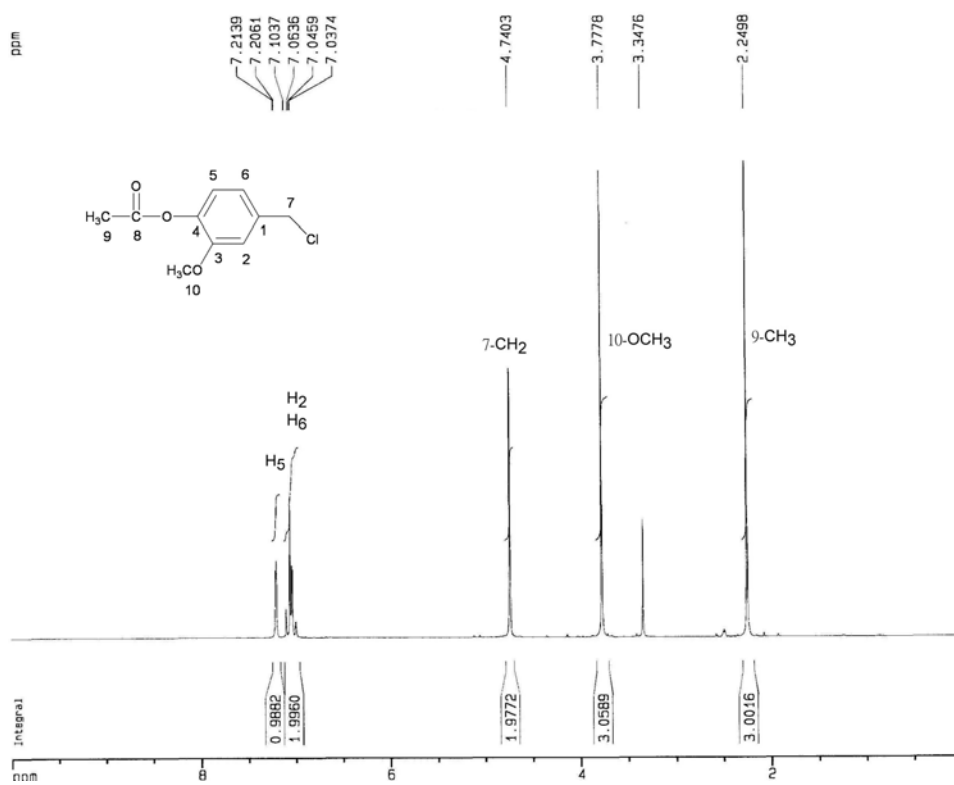


圖 3-3 <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 200MHz) spectrum of compound 3

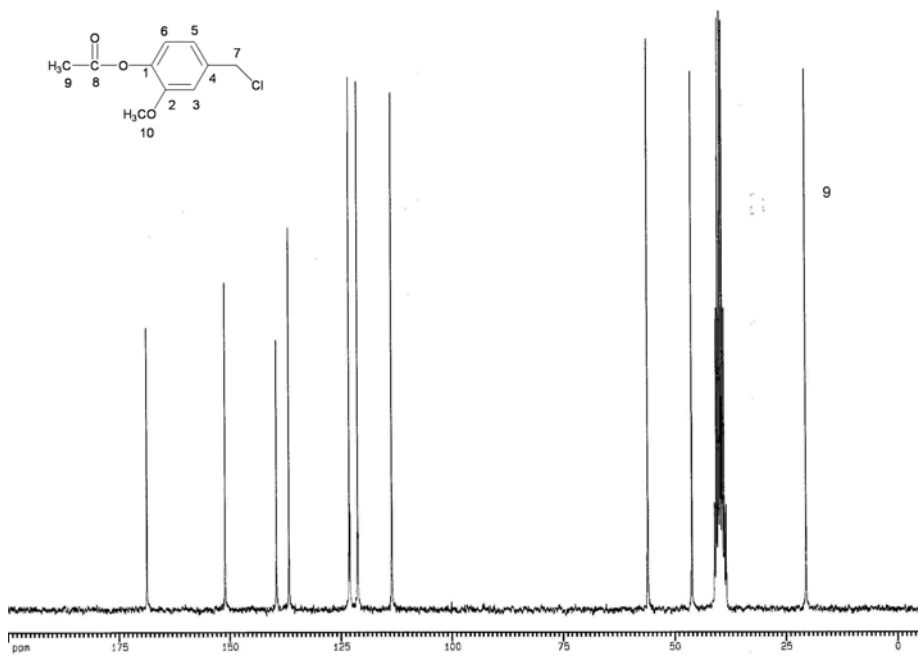


圖 3-4  $^{13}\text{C}$ -NMR (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 3

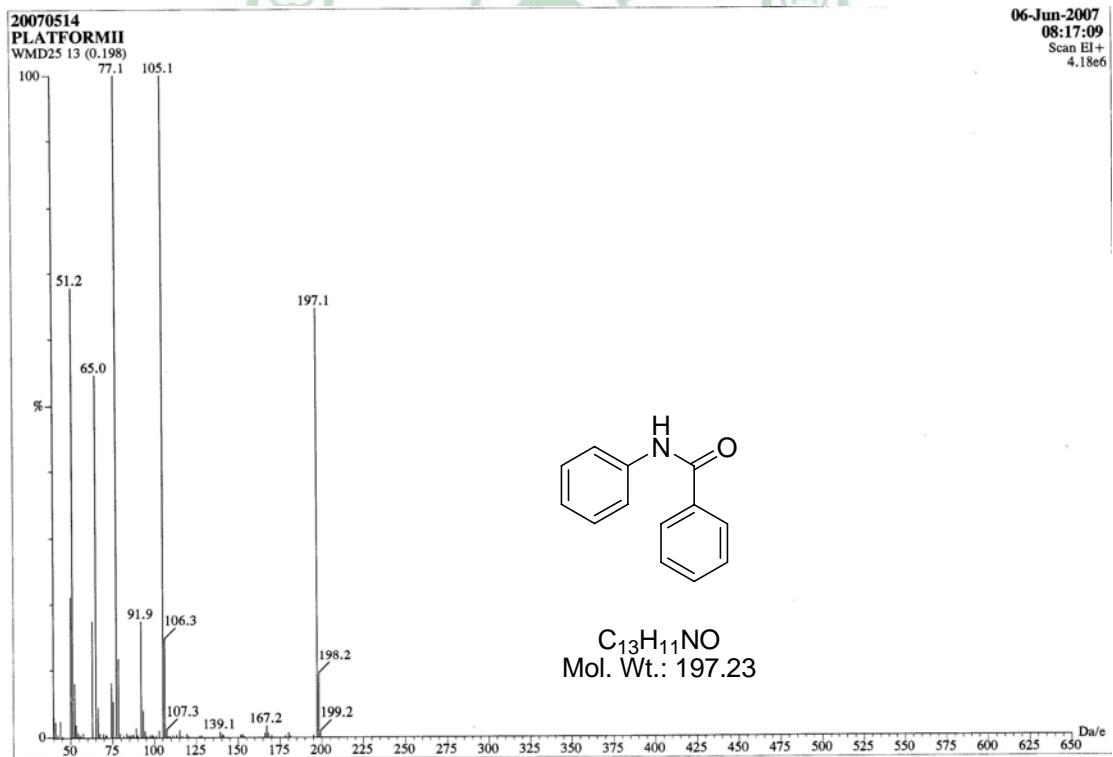


圖 13-1 MS spectrum of compound 13

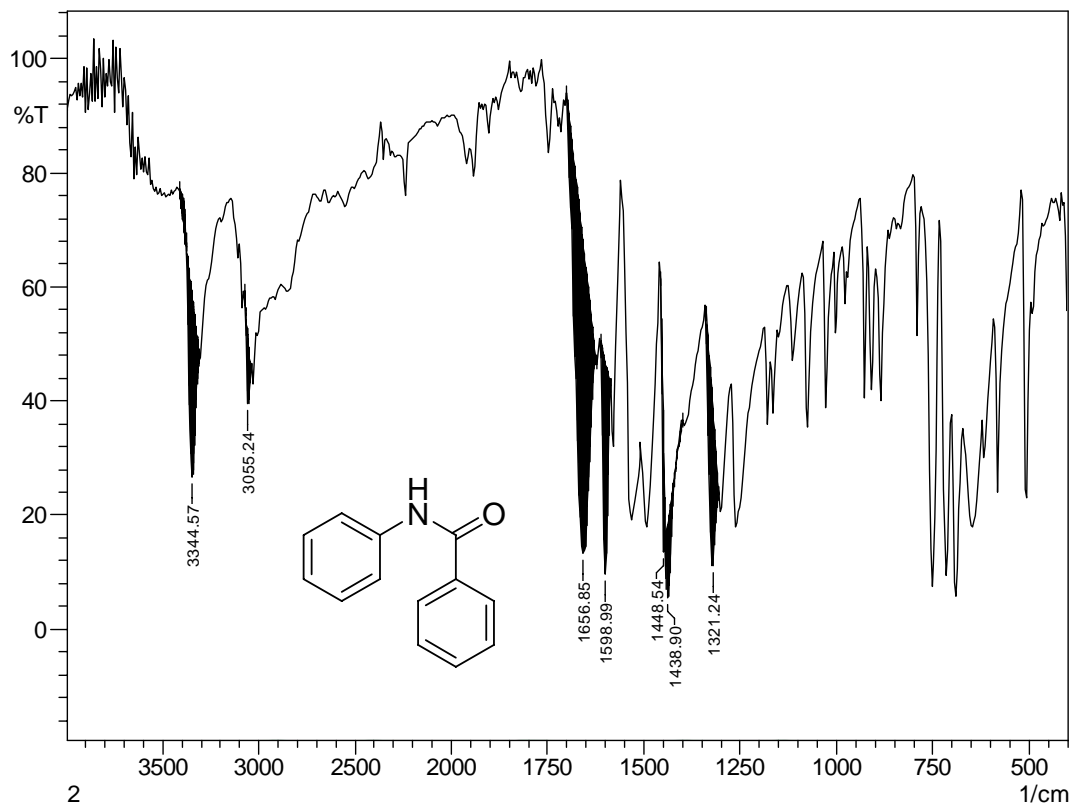


圖 13-2 IR spectrum of compound 13

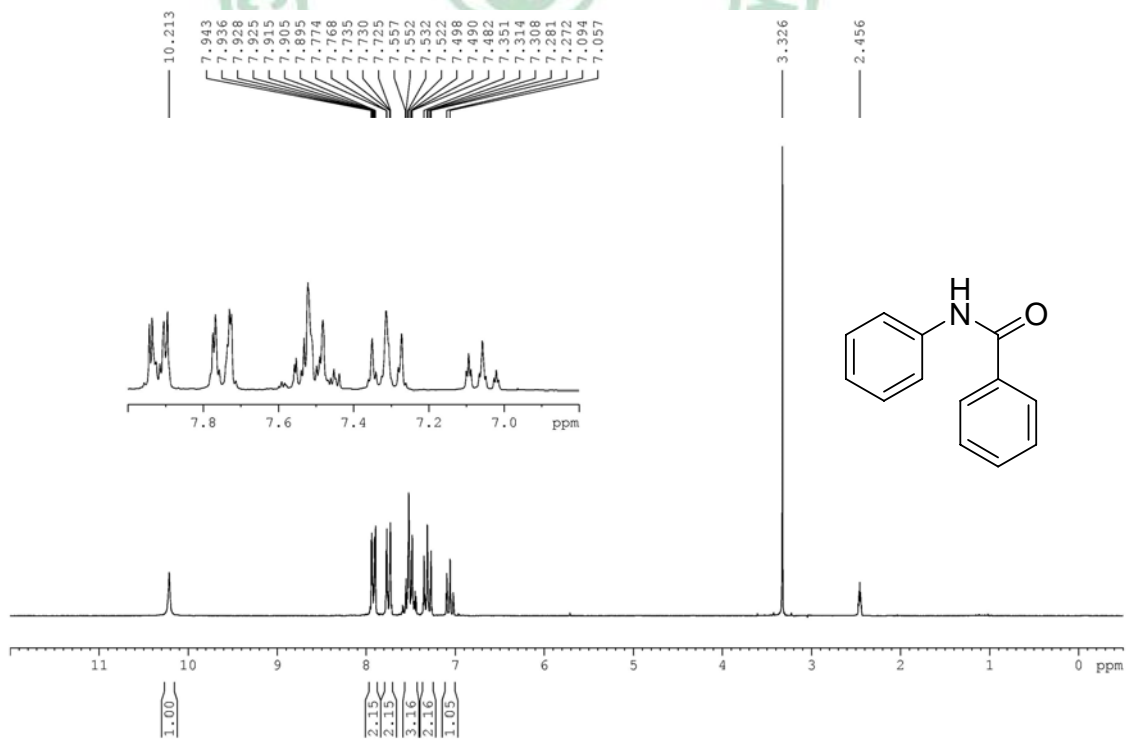


圖 13-3  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 13

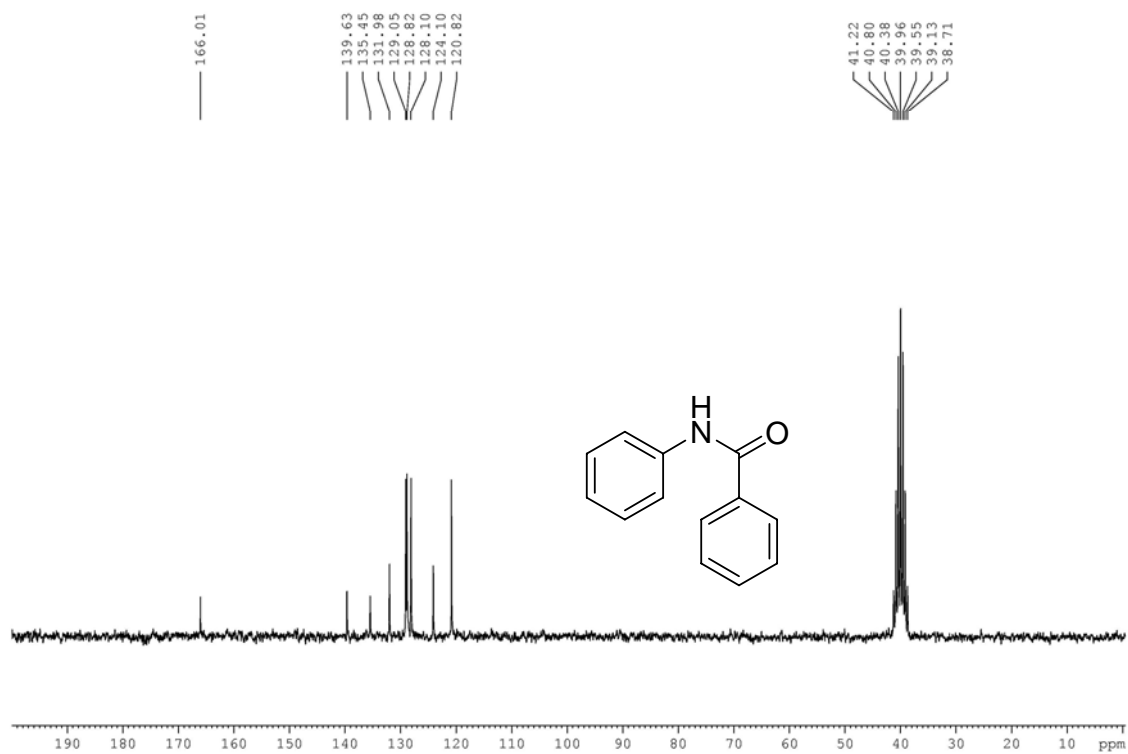


圖 13-4  $^{13}\text{C}$ -NMR (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 13

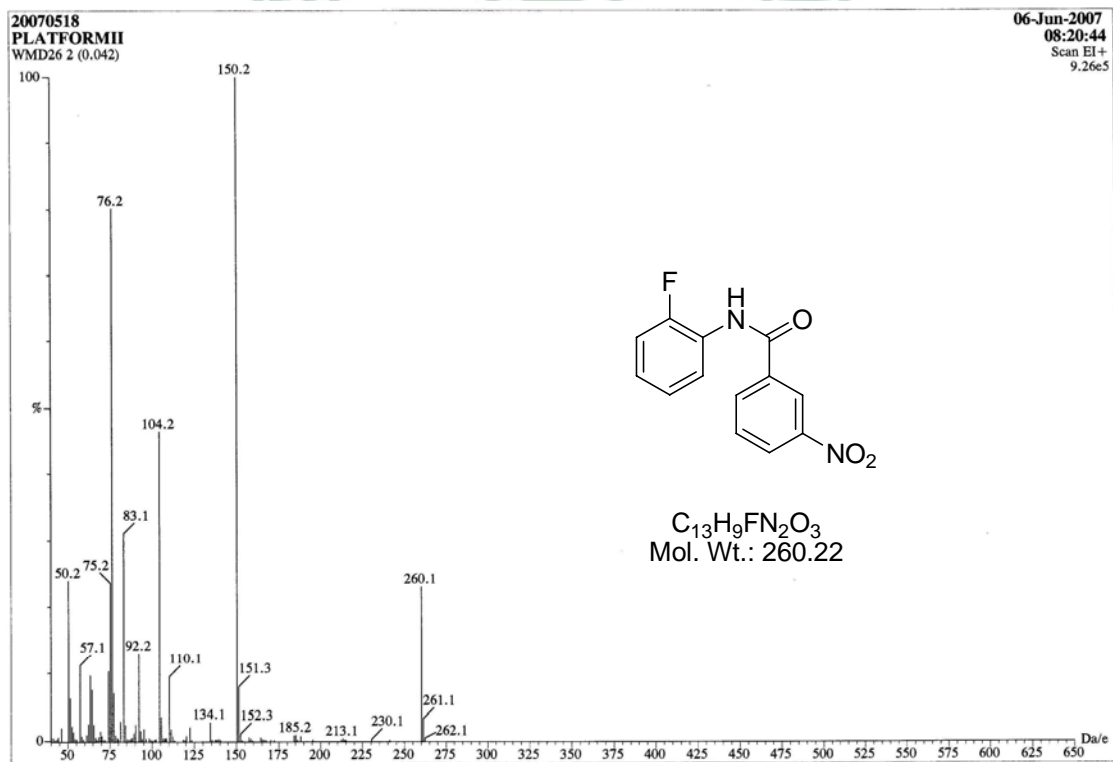


圖 14-1 MS spectrum of compound 14

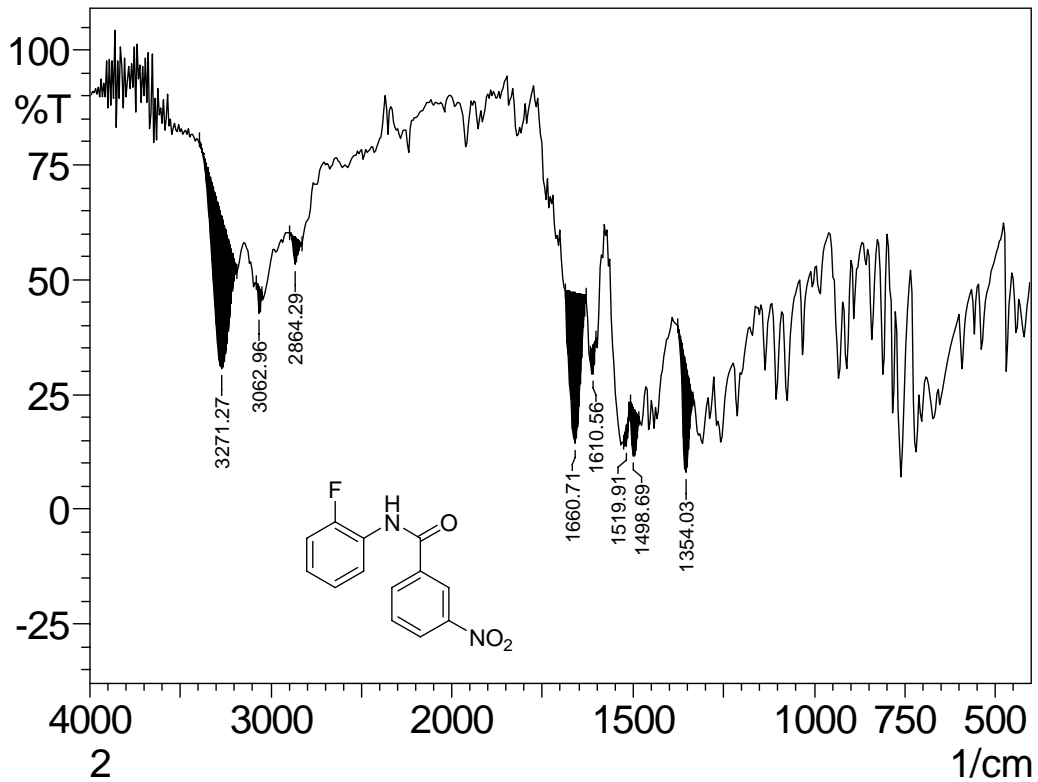


圖 14-2 IR spectrum of compound 14

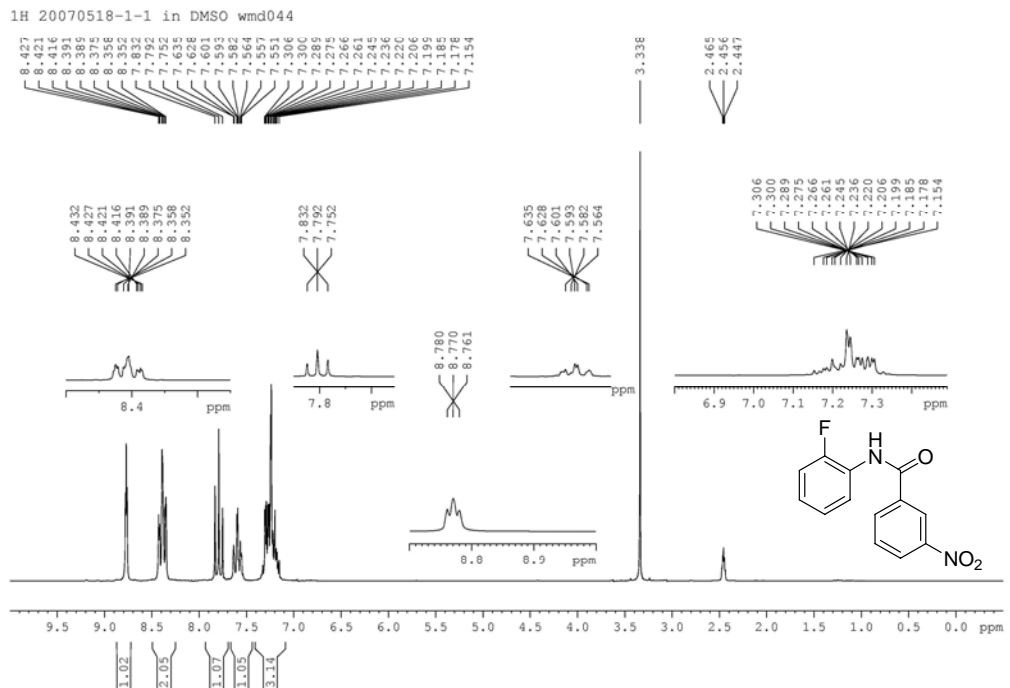


圖 14-3  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 14

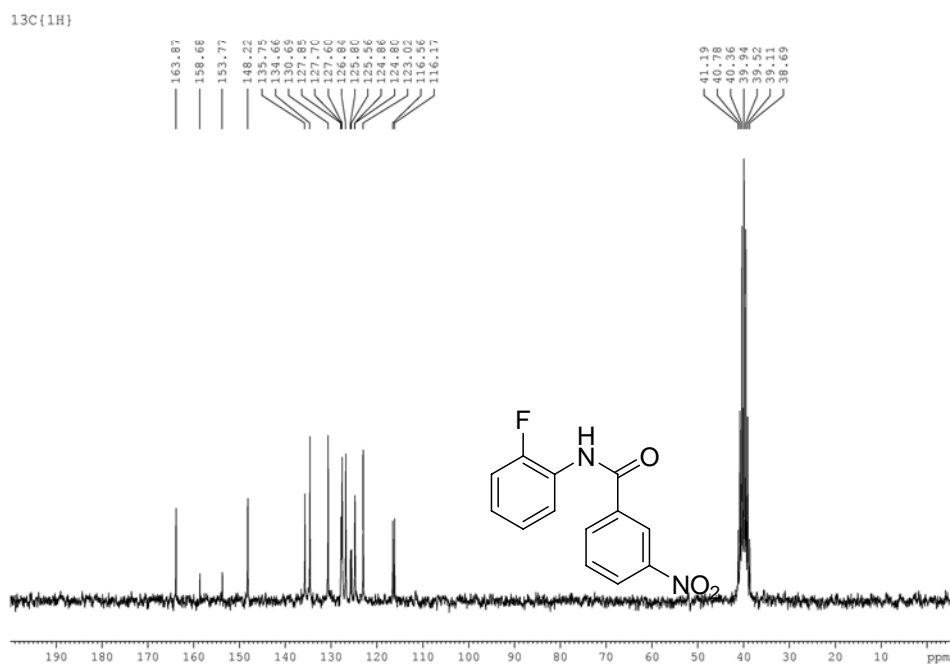


圖 14-4  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 14

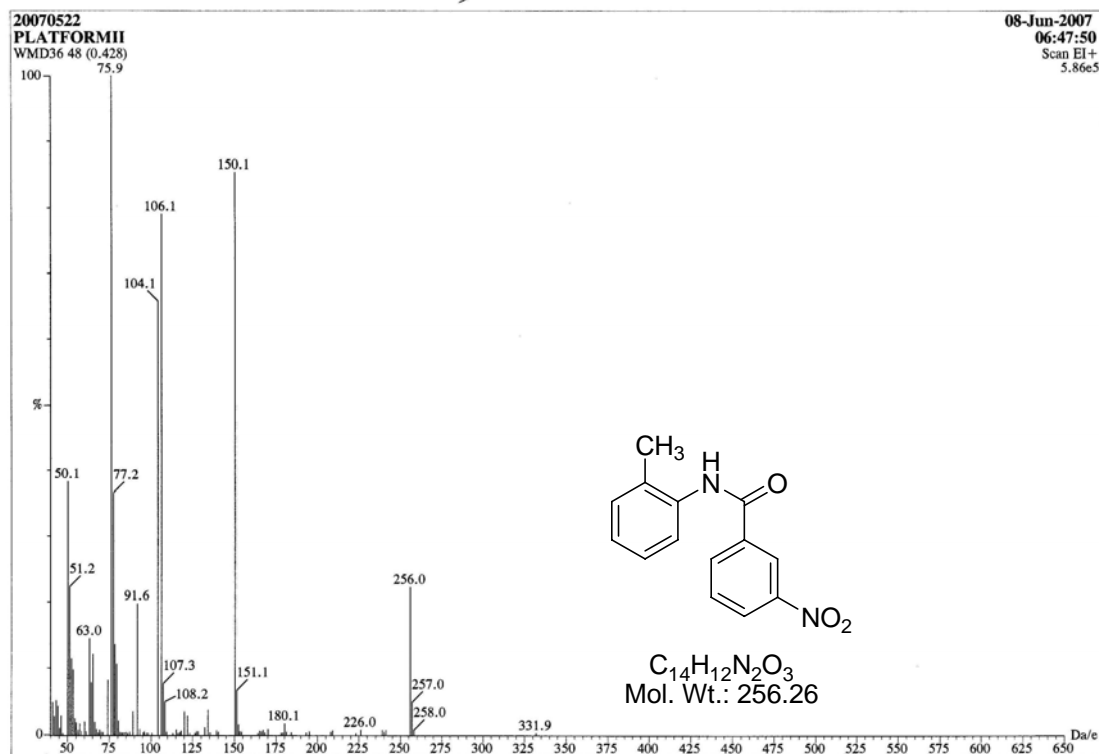


圖 15-1 MS spectrum of compound 15



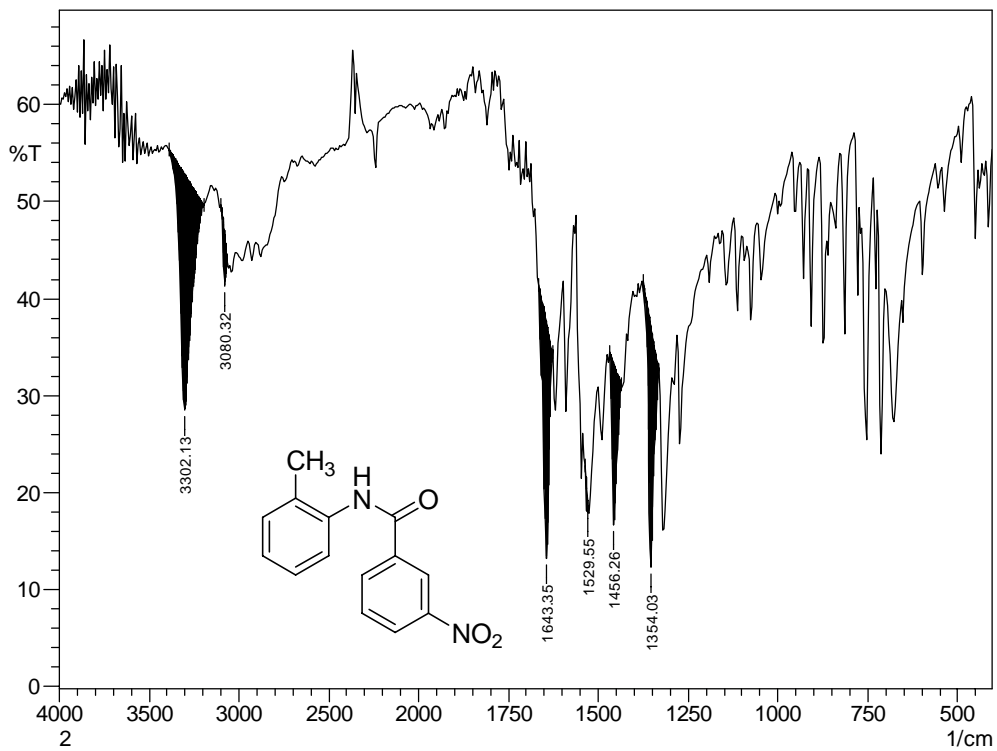


圖 15-2 IR spectrum of compound 15

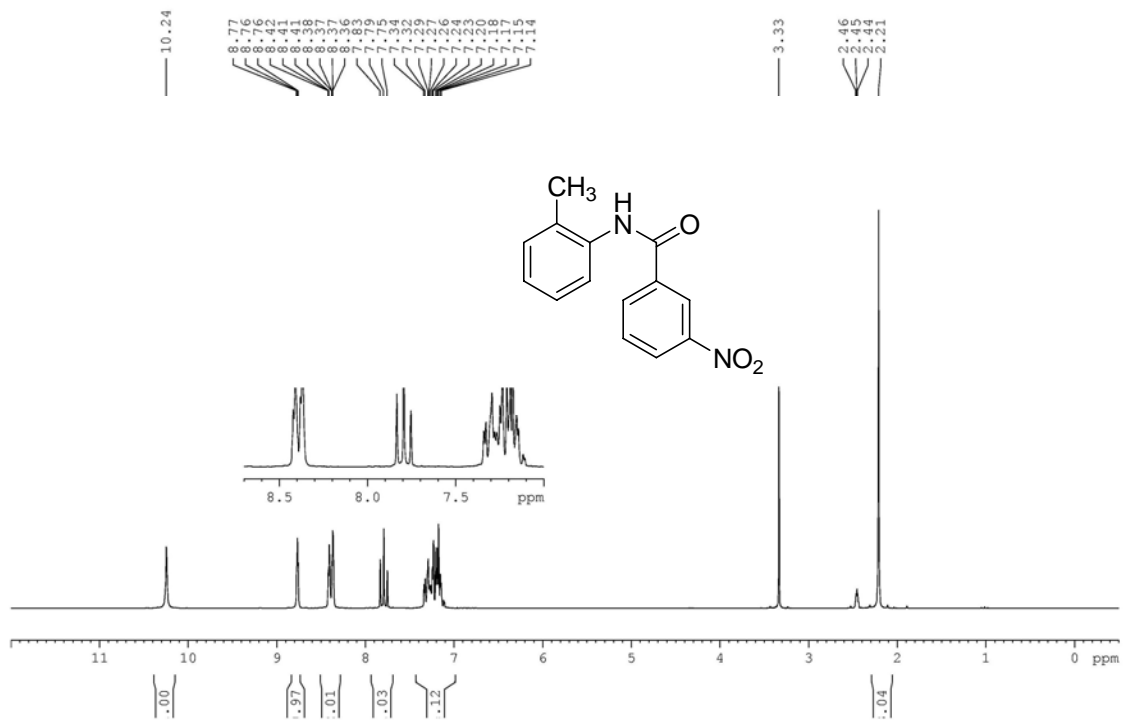


圖 15-3  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 15

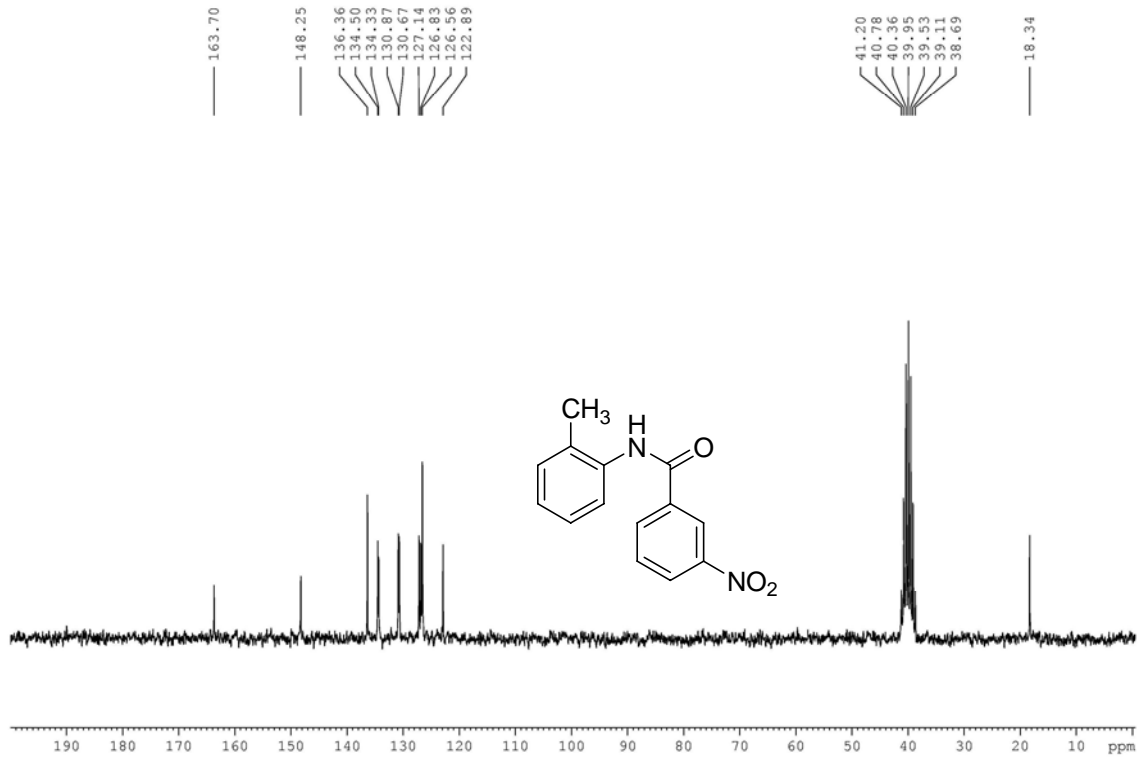


圖 15-4  $^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 15

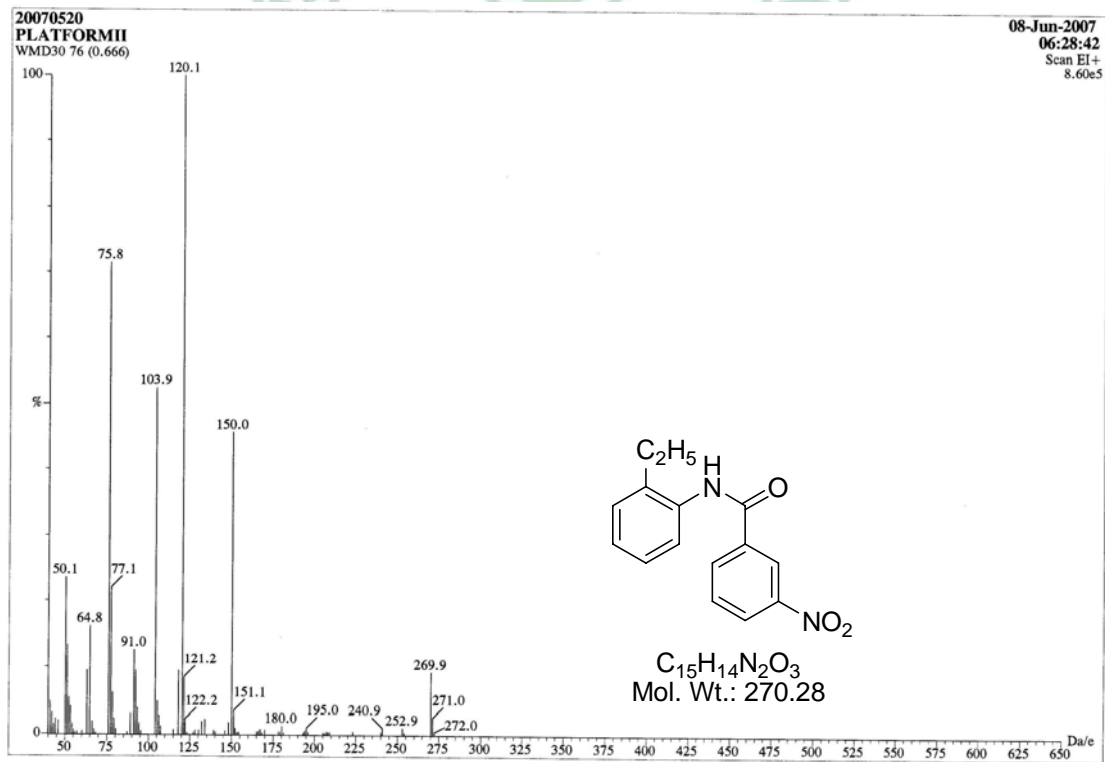


圖 16-1 MS spectrum of compound 16

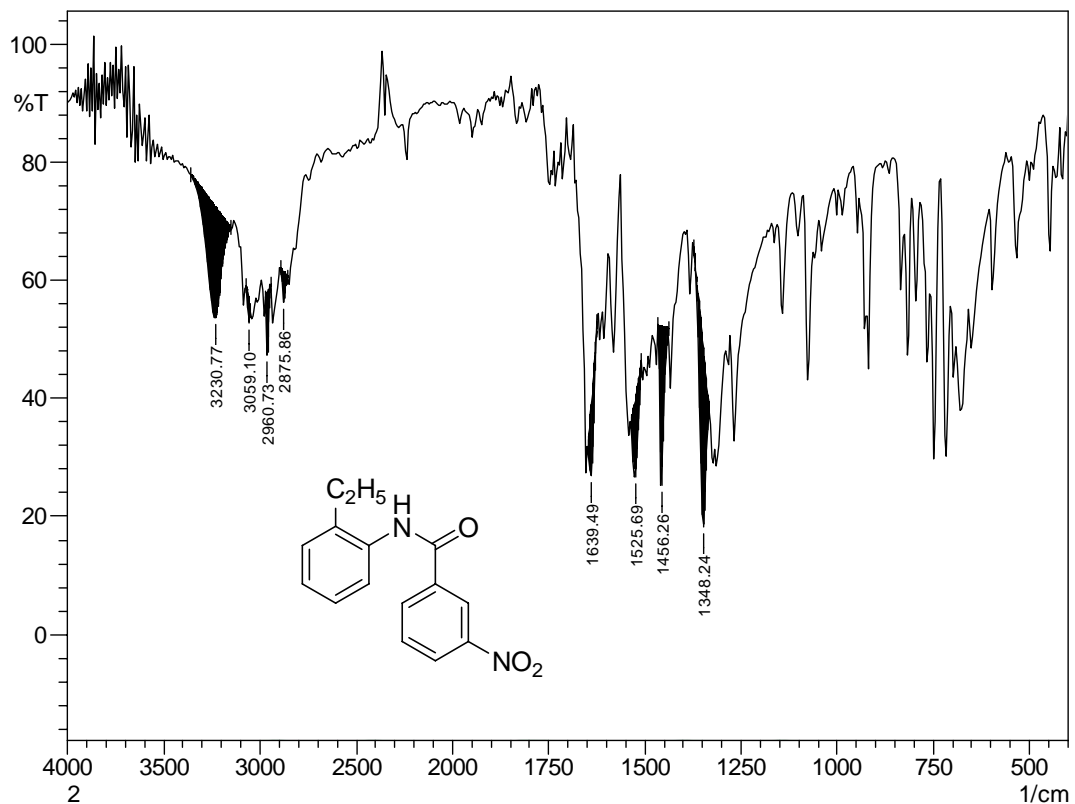


圖 16-2 MS spectrum of compound 16

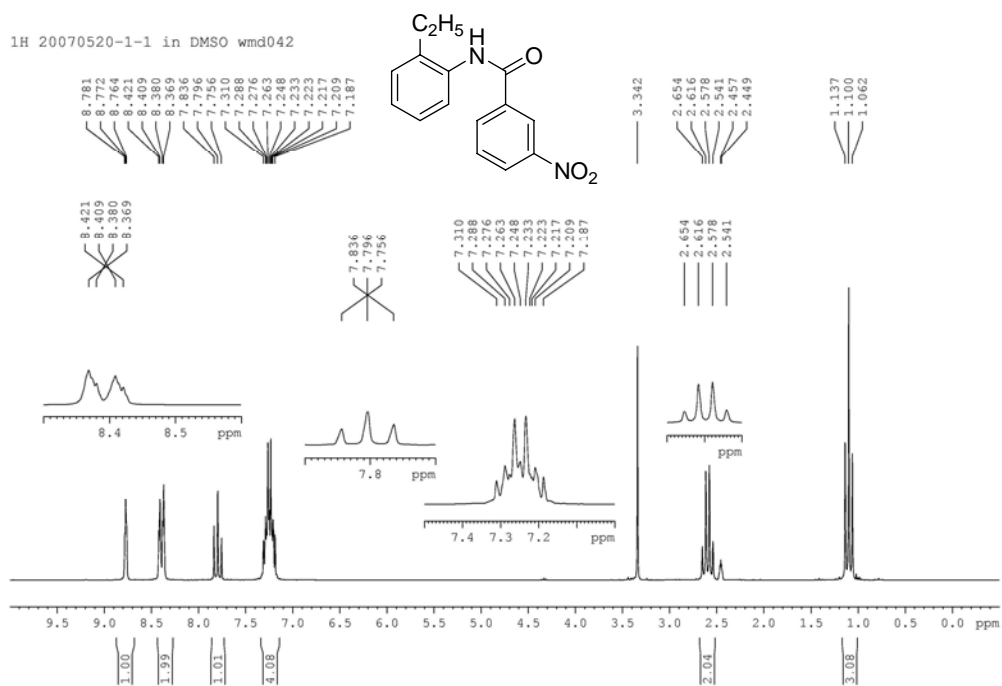


圖 16-3  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 16

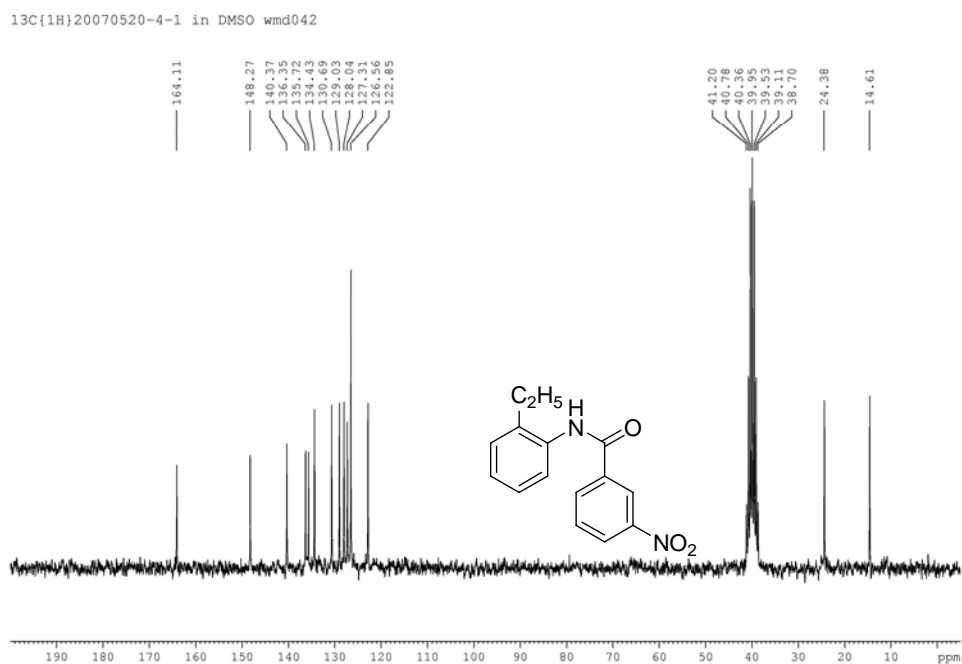


圖 16-4  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 16

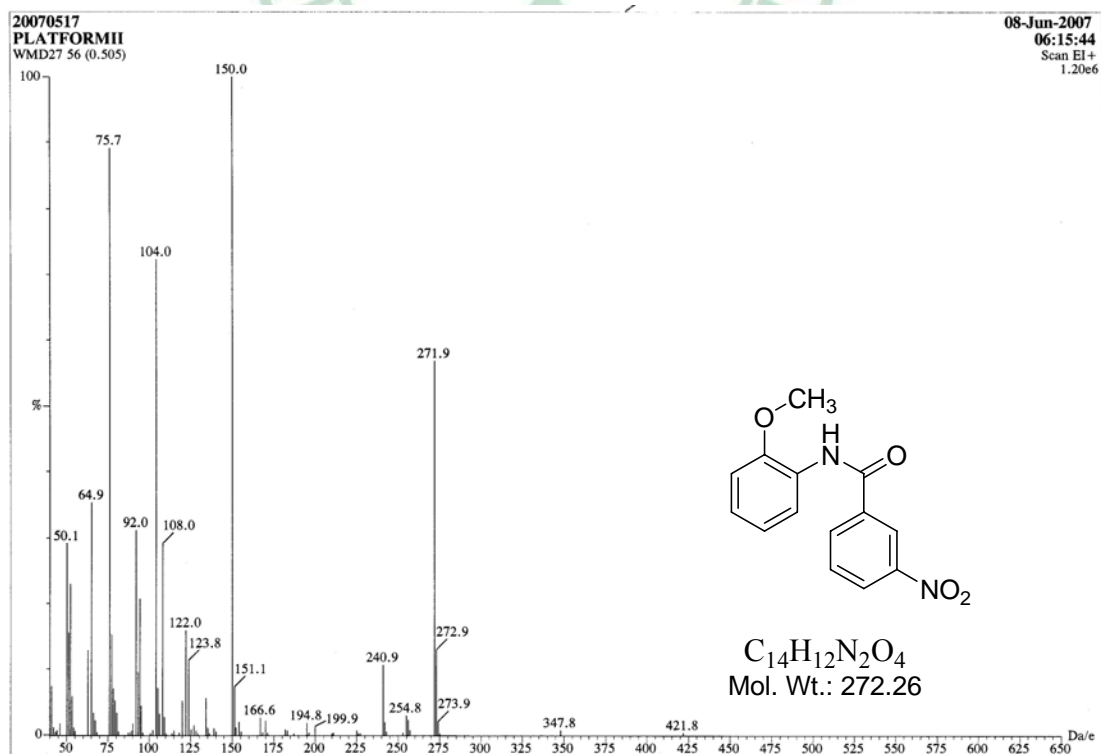


圖 17-1 MS spectrum of compound 17

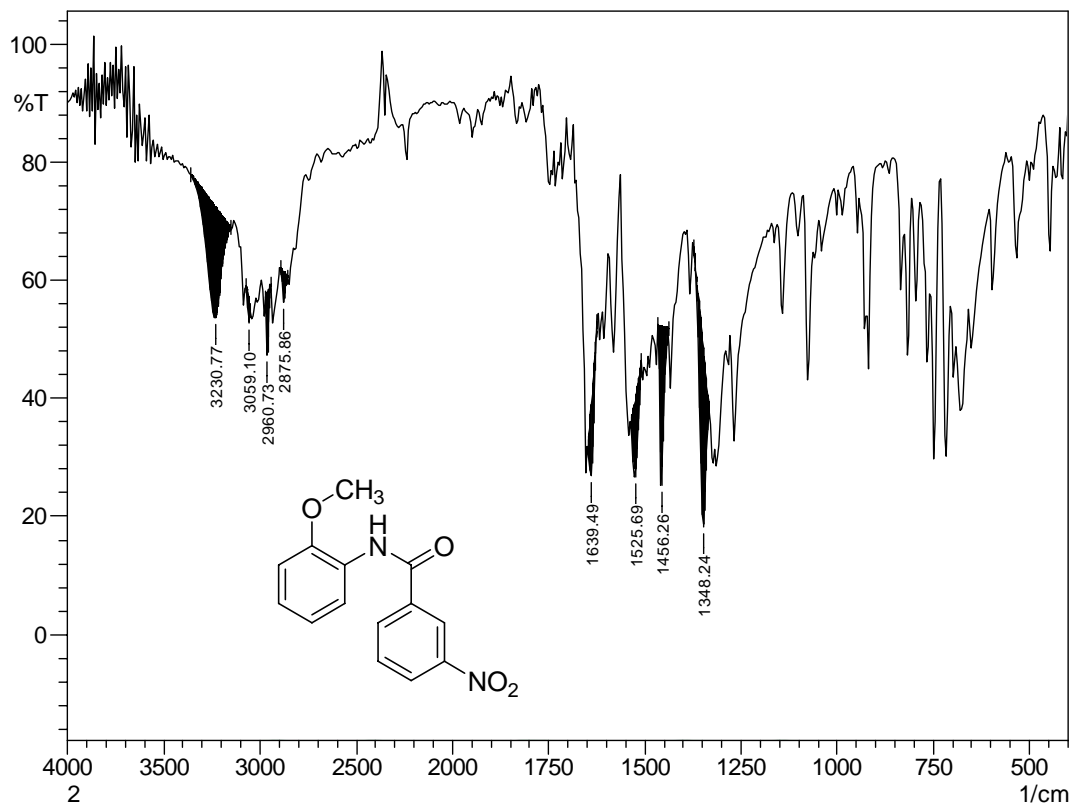


圖 17-2 MS spectrum of compound 17

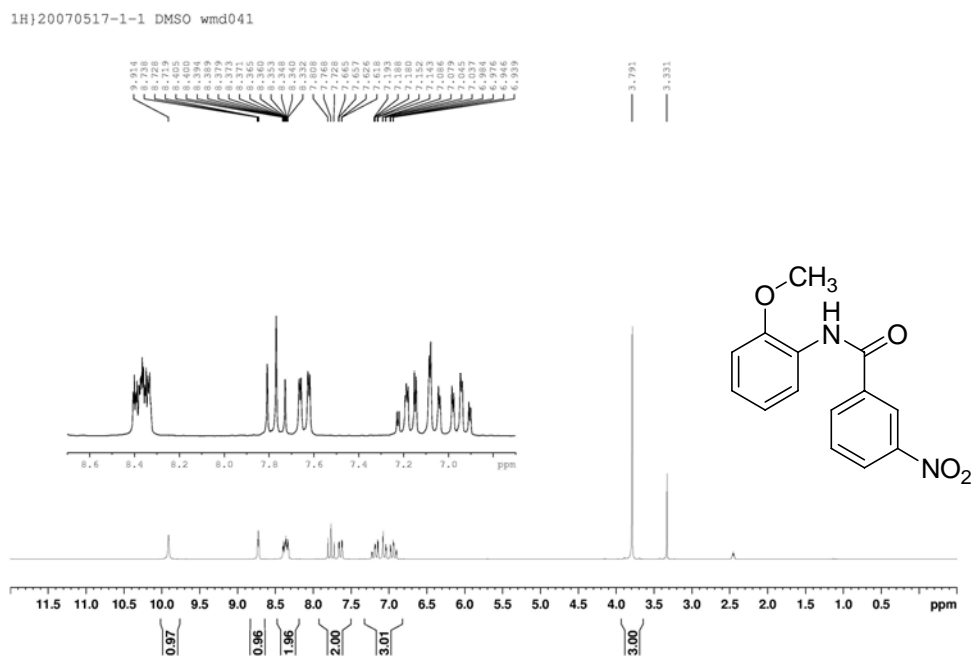


圖 17-3 <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 200MHz) spectrum of compound 17

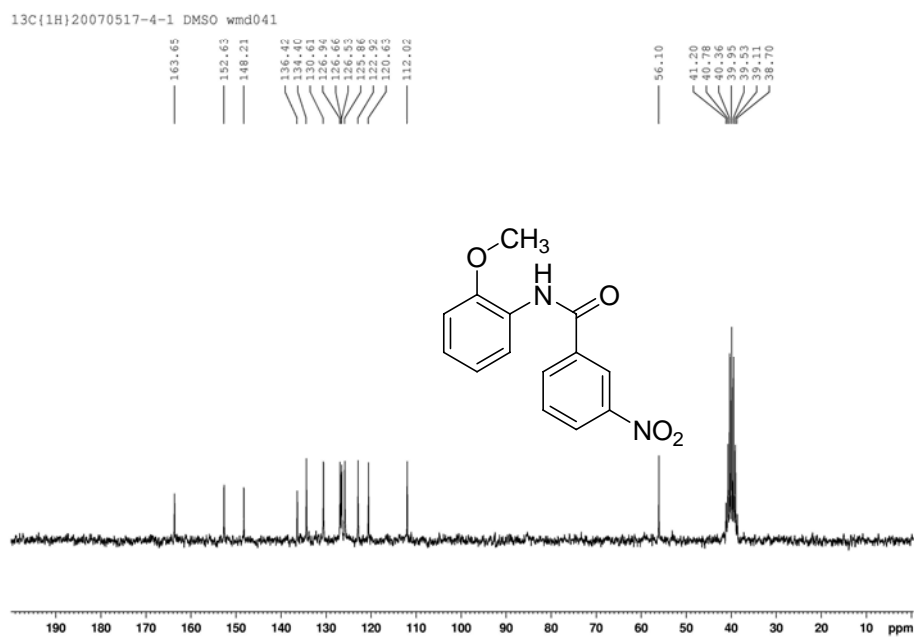


圖 17-4  $^{13}\text{C}$ -NMR (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 17

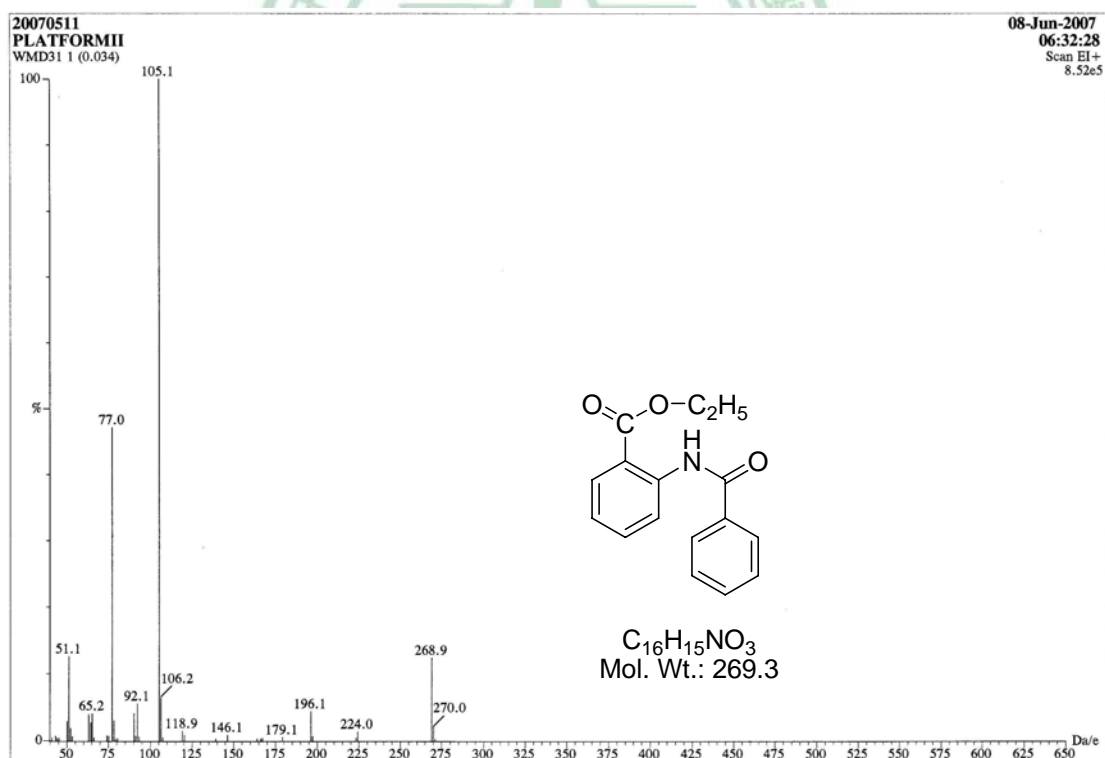


圖 18-1 MS spectrum of compound 18

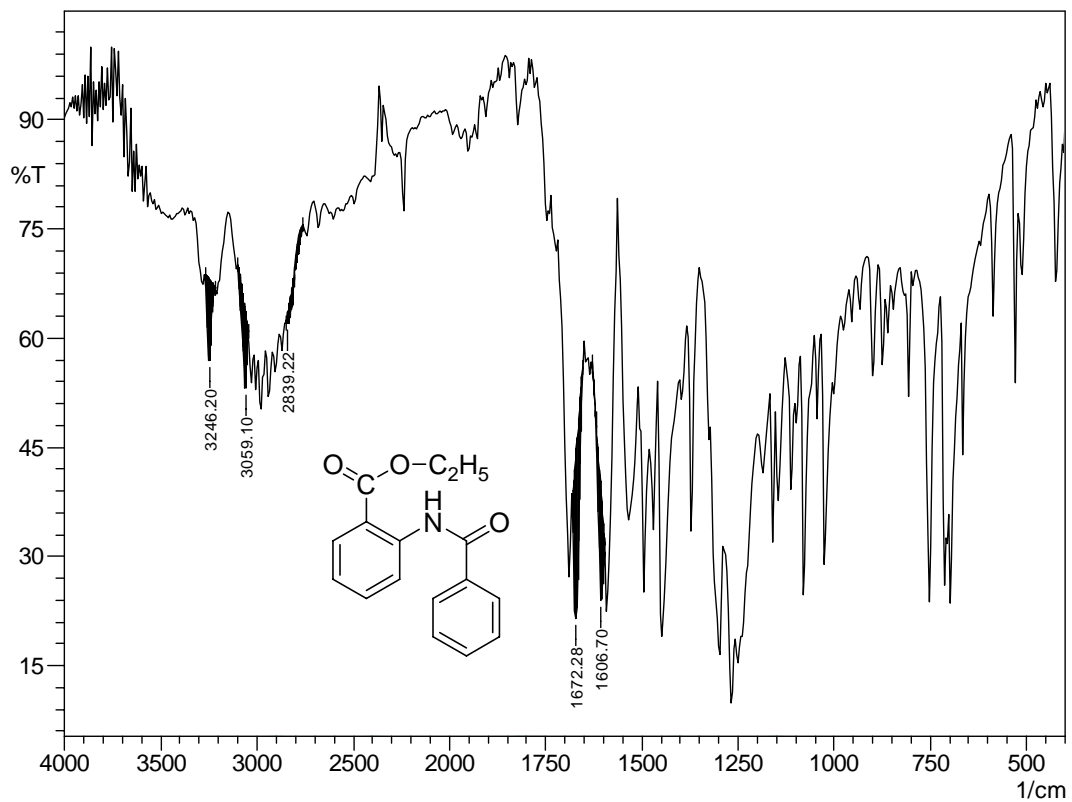


圖 18-2 IR spectrum of compound 18

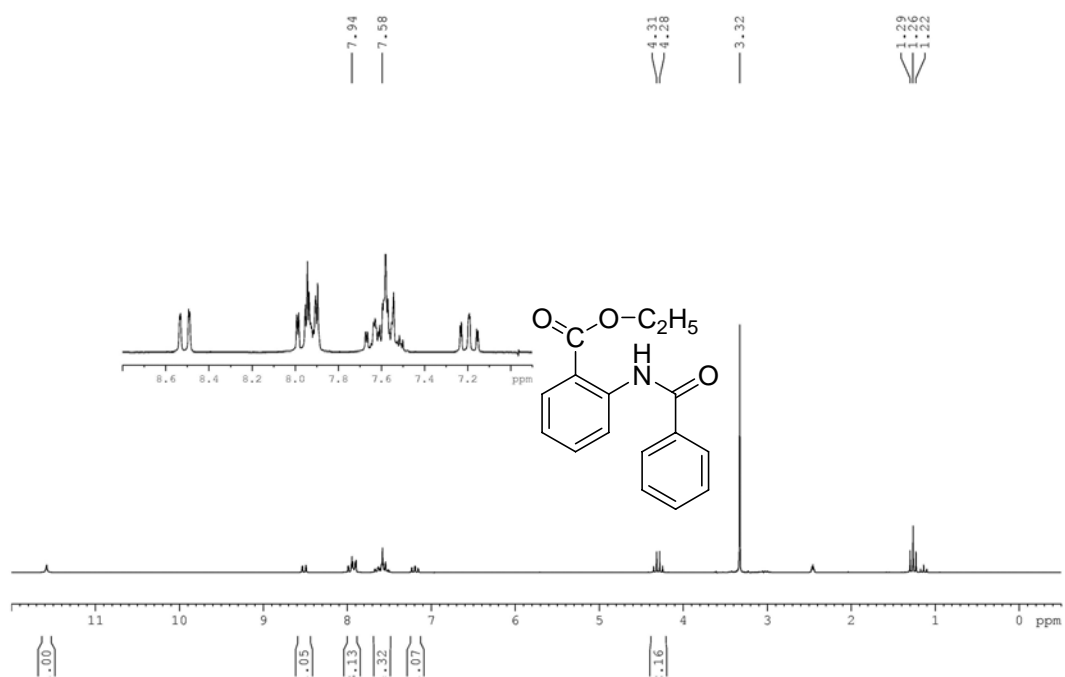


圖 18-3 <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 200MHz) spectrum of compound 18

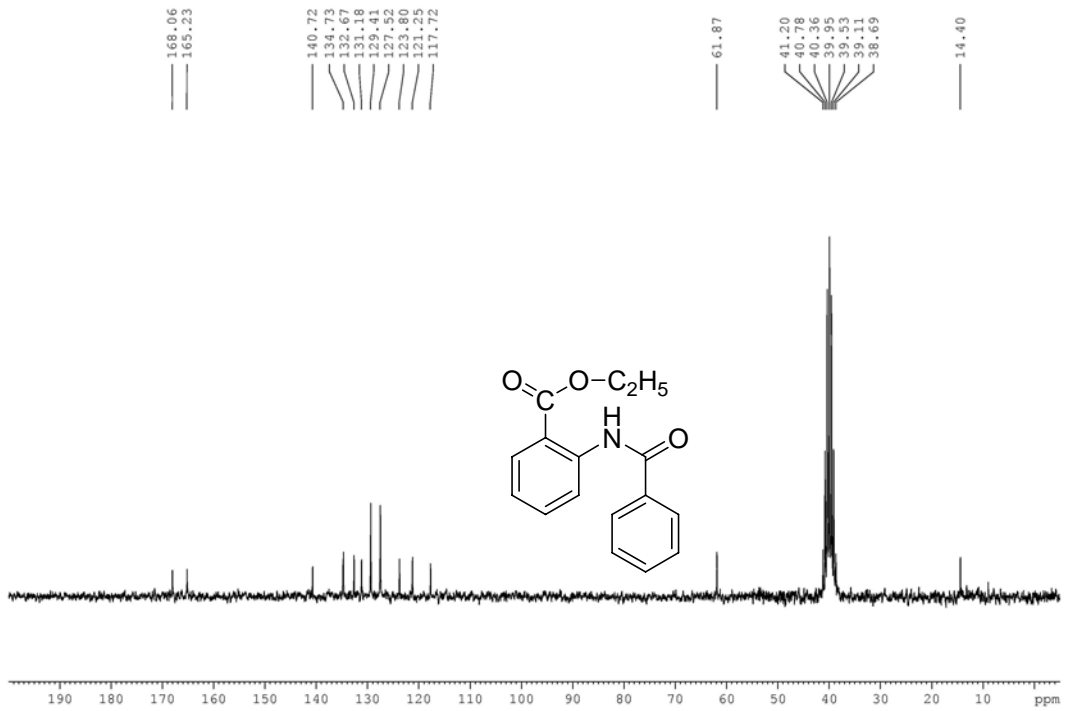


圖 18-4  $^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 18

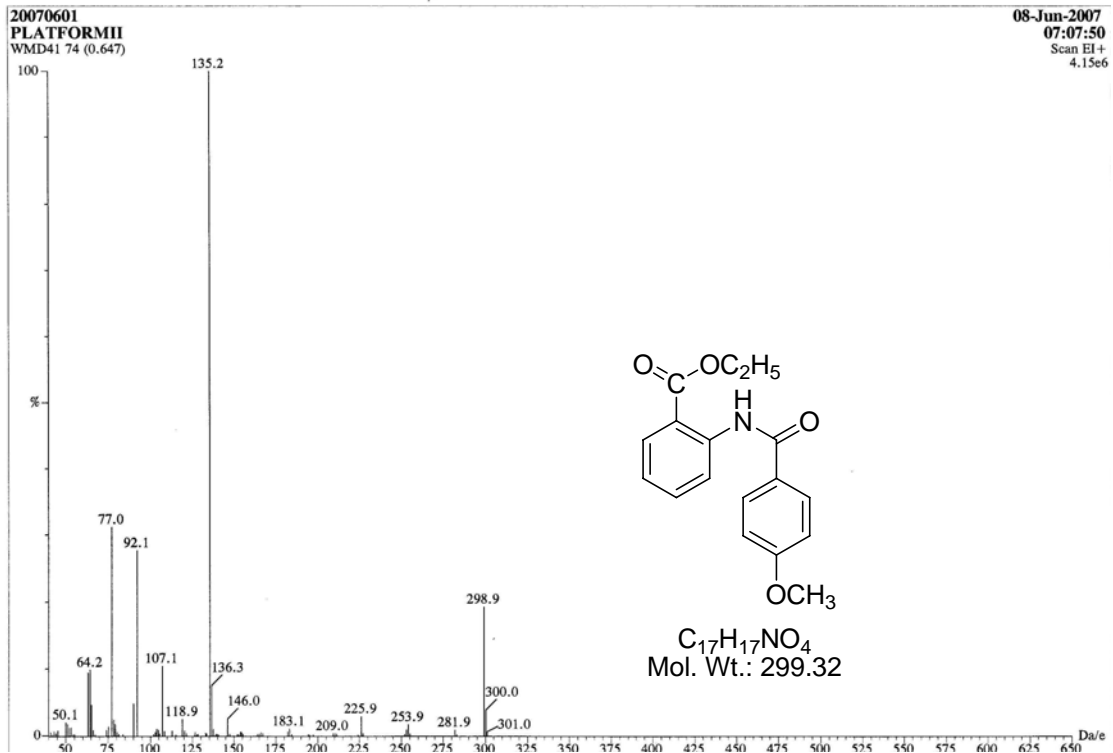


圖 19-1 MS spectrum of compound 19



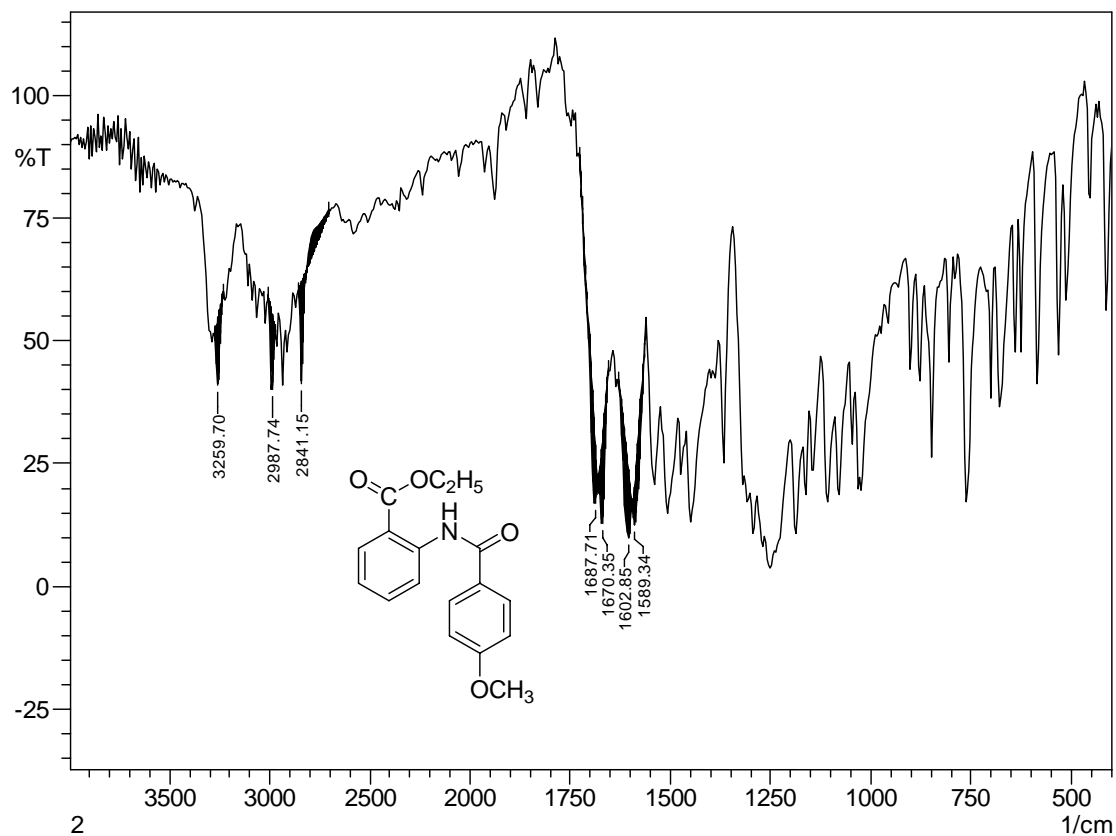


圖 19-2 IR spectrum of compound 19

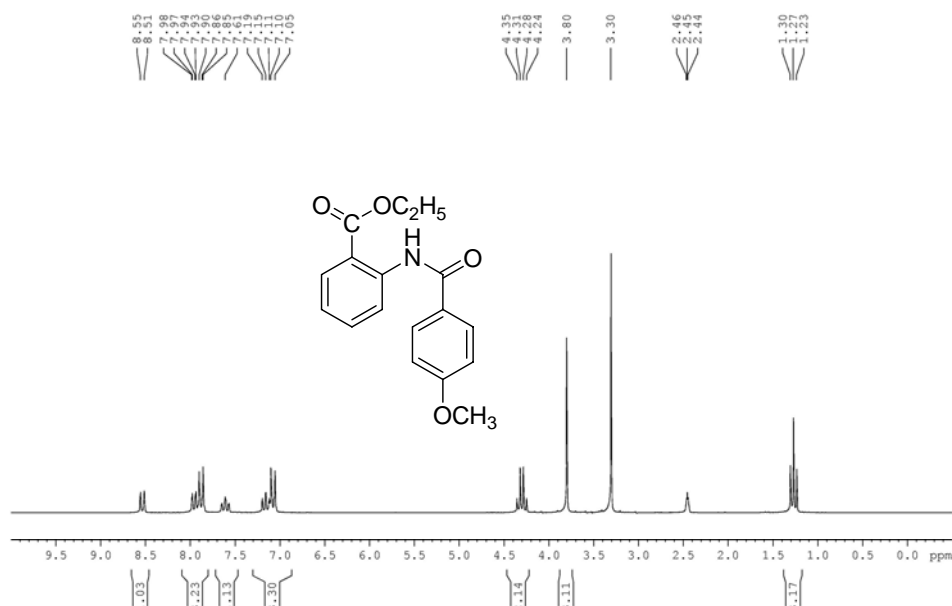


圖 19-3  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 19

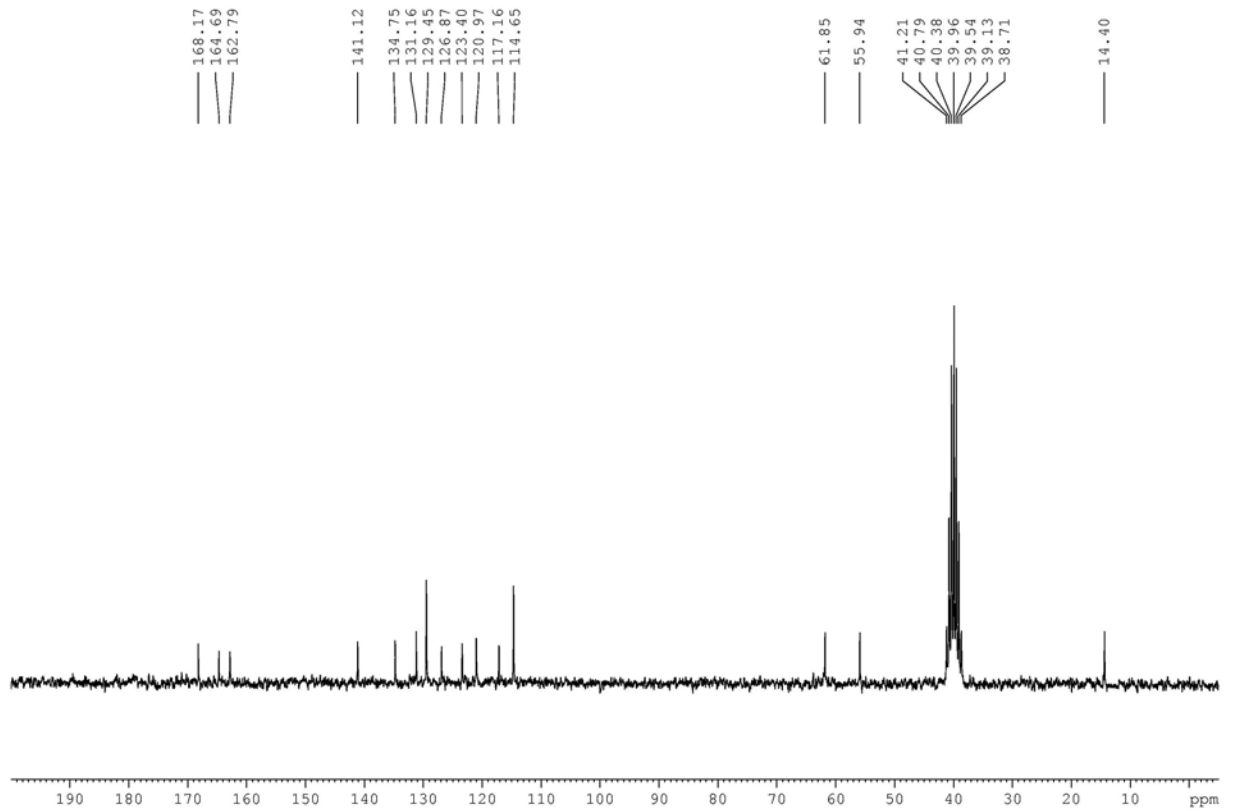


圖 19-4  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{DMSO-}d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 19

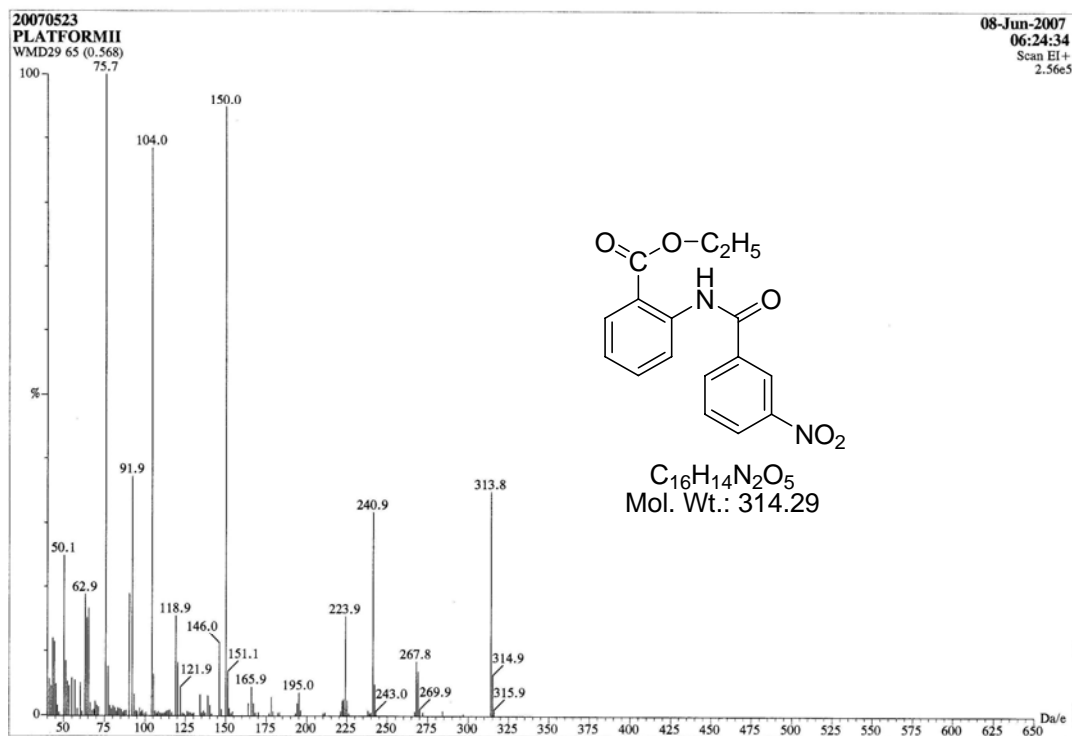


圖 20-1 MS spectrum of compound 20

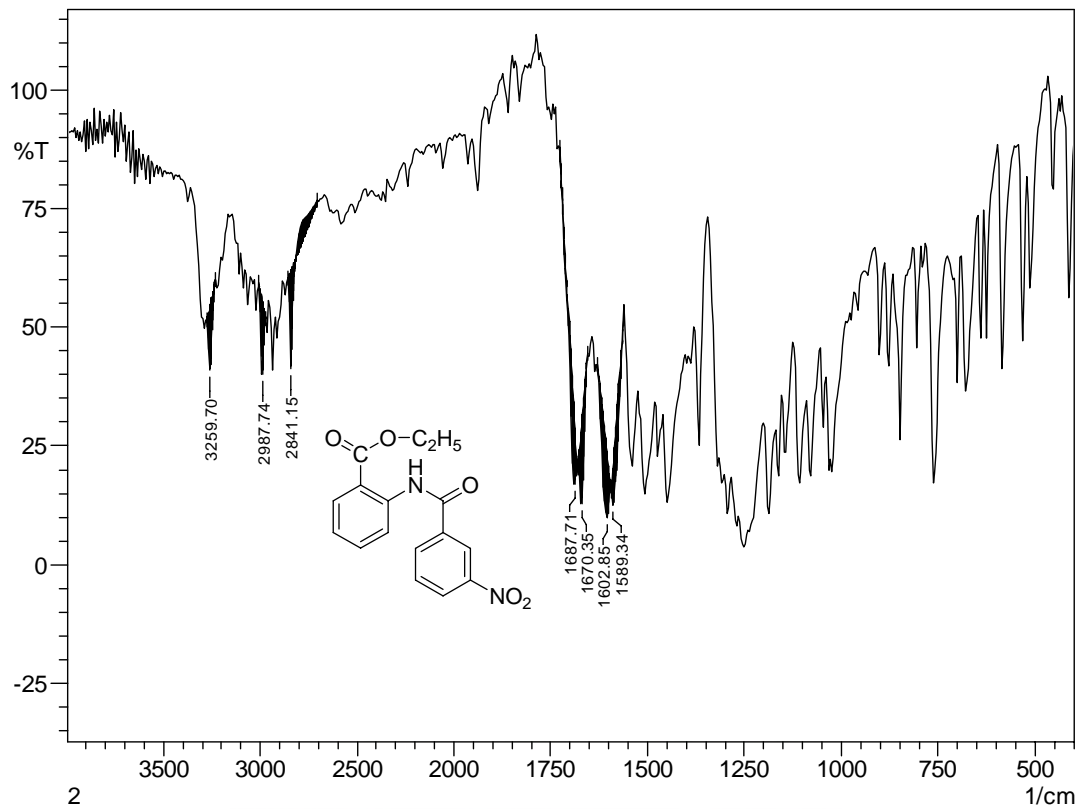


圖 20-2 IR spectrum of compound 20

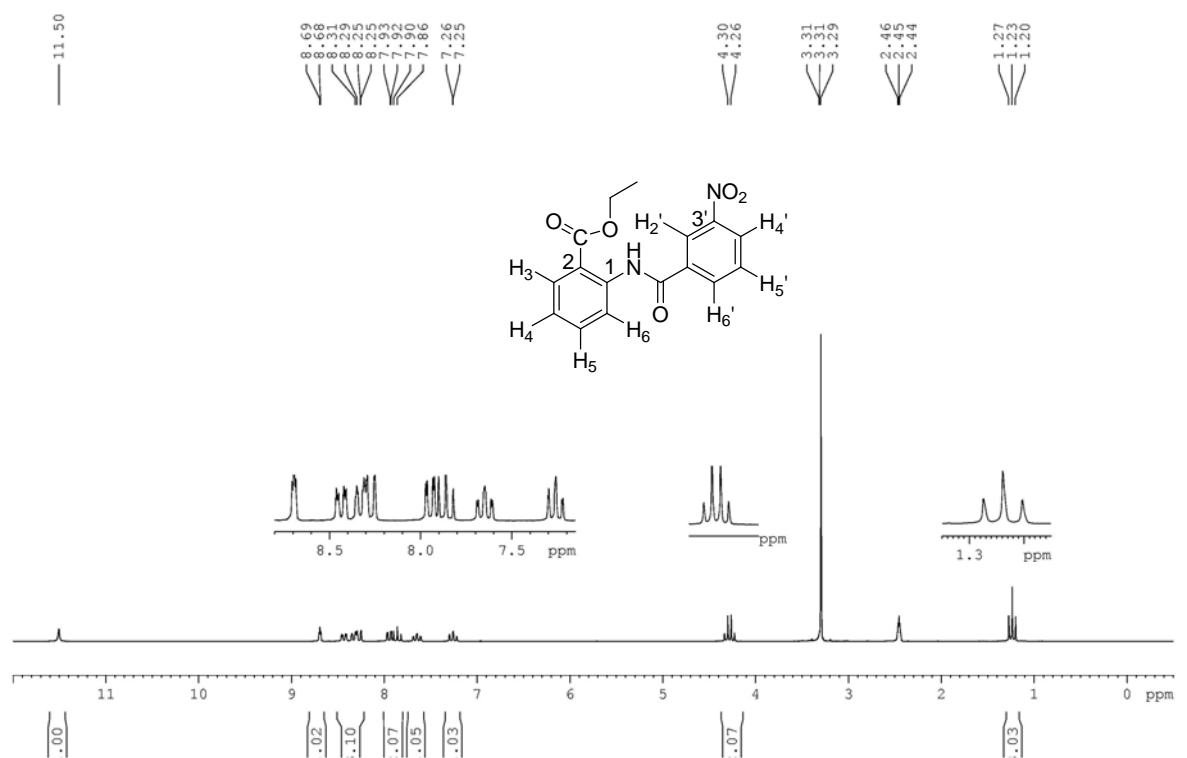


圖 20-3  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 20

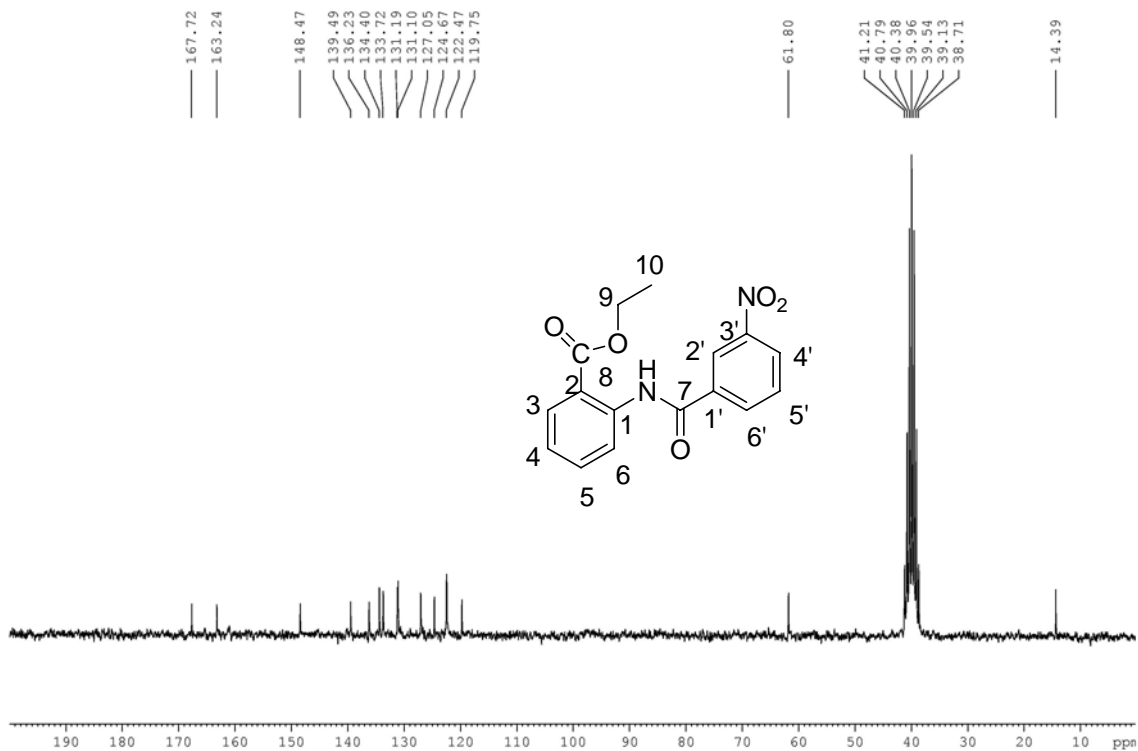


圖 20-4  $^{13}\text{C}$ -NMR (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 20

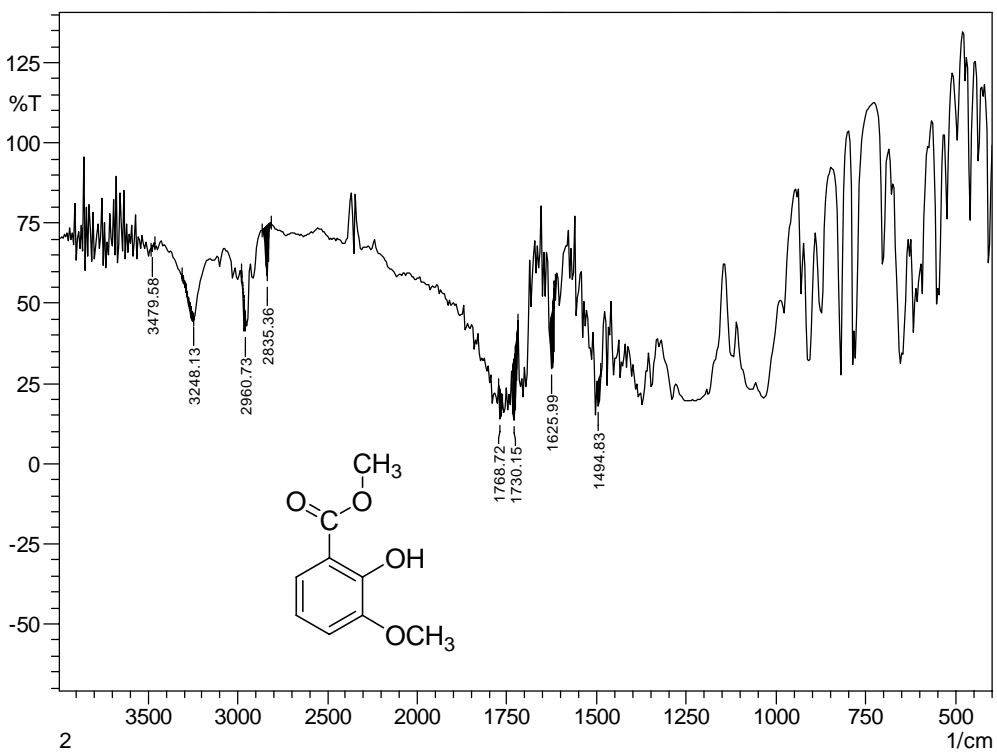


圖 25-1 IR spectrum of compound 25

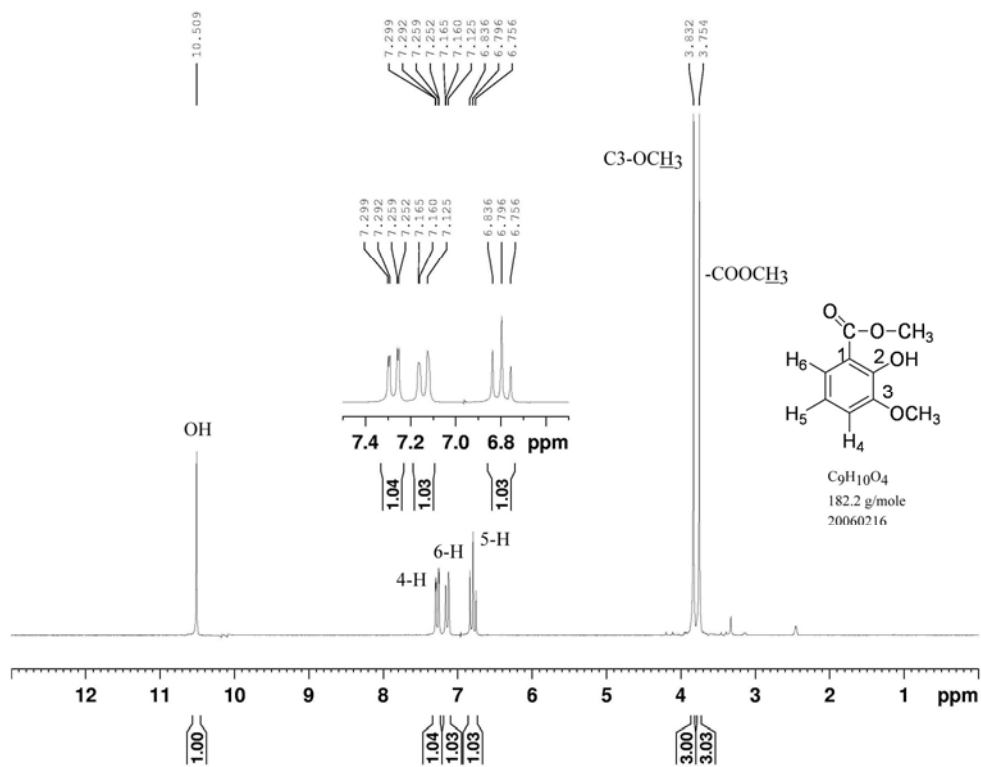


圖 25-2 <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 200MHz) spectrum of compound 25

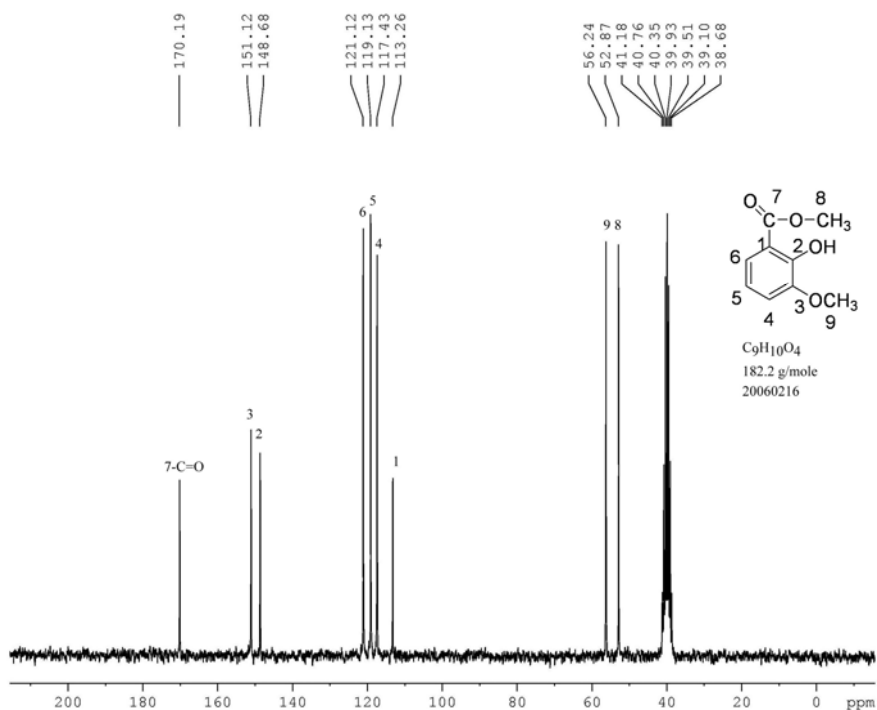


圖 25-3 <sup>13</sup>C-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 200MHz) spectrum of compound 25

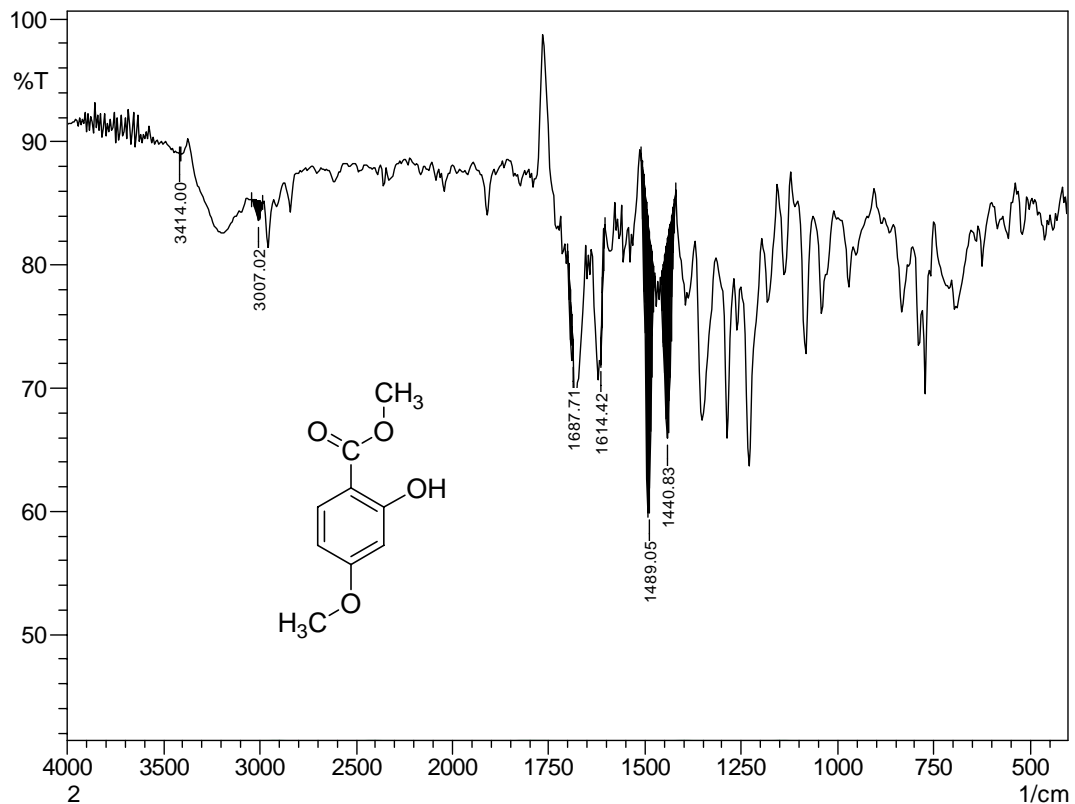


圖 26-1 IR spectrum of compound 26

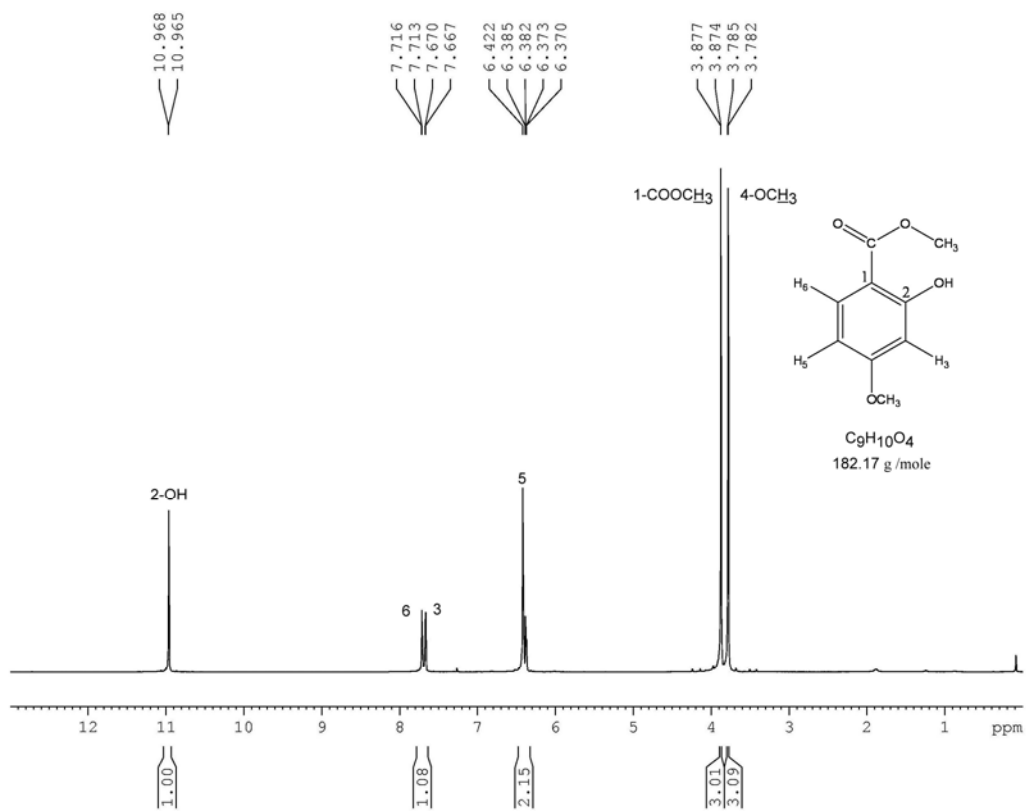


圖 26-2  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 26

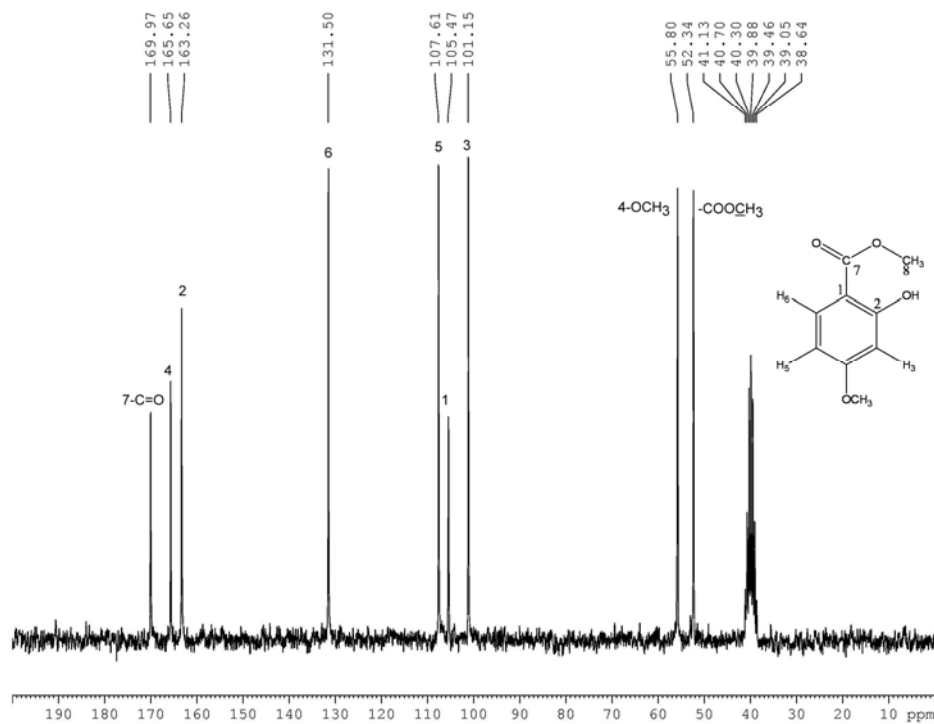


圖 26-3  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 26

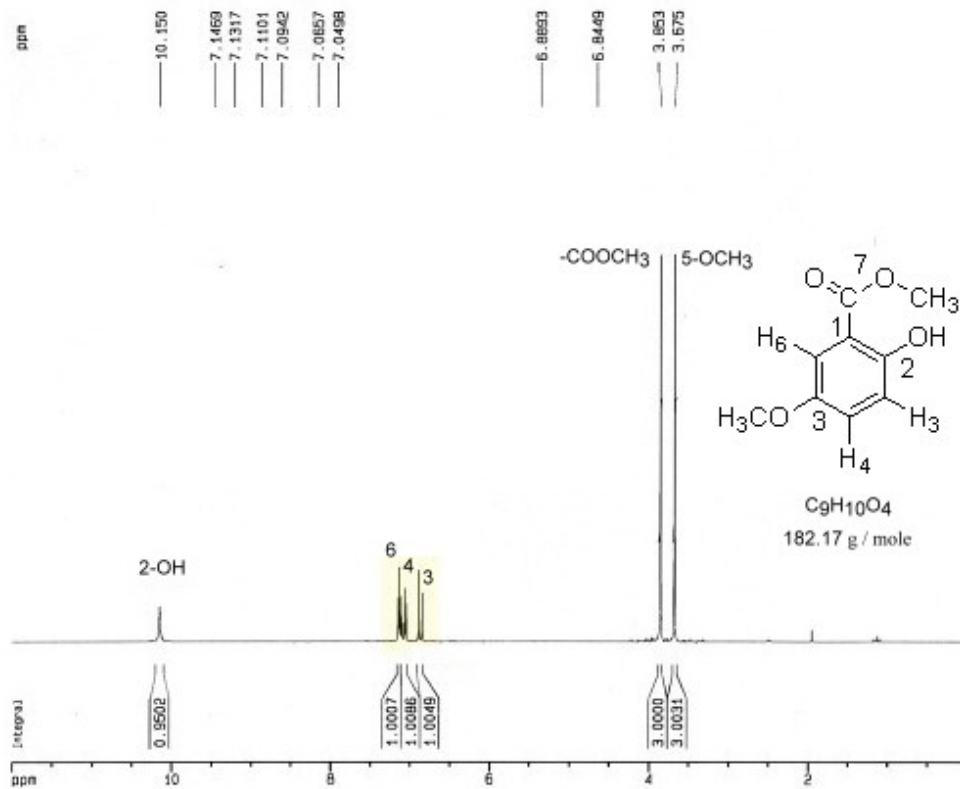


圖 27-1  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 27

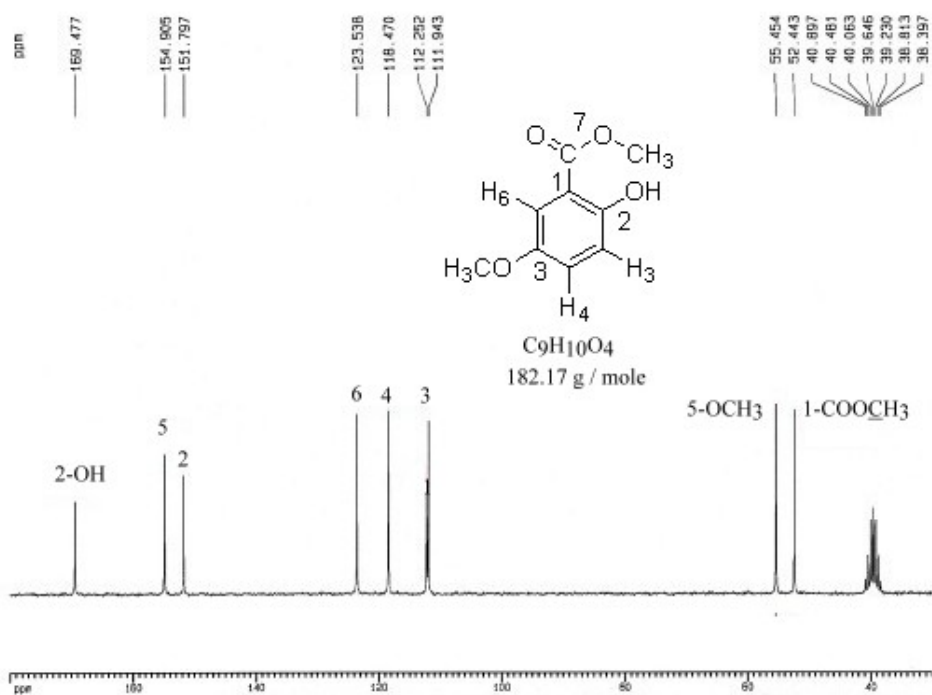


圖 27-2  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 27

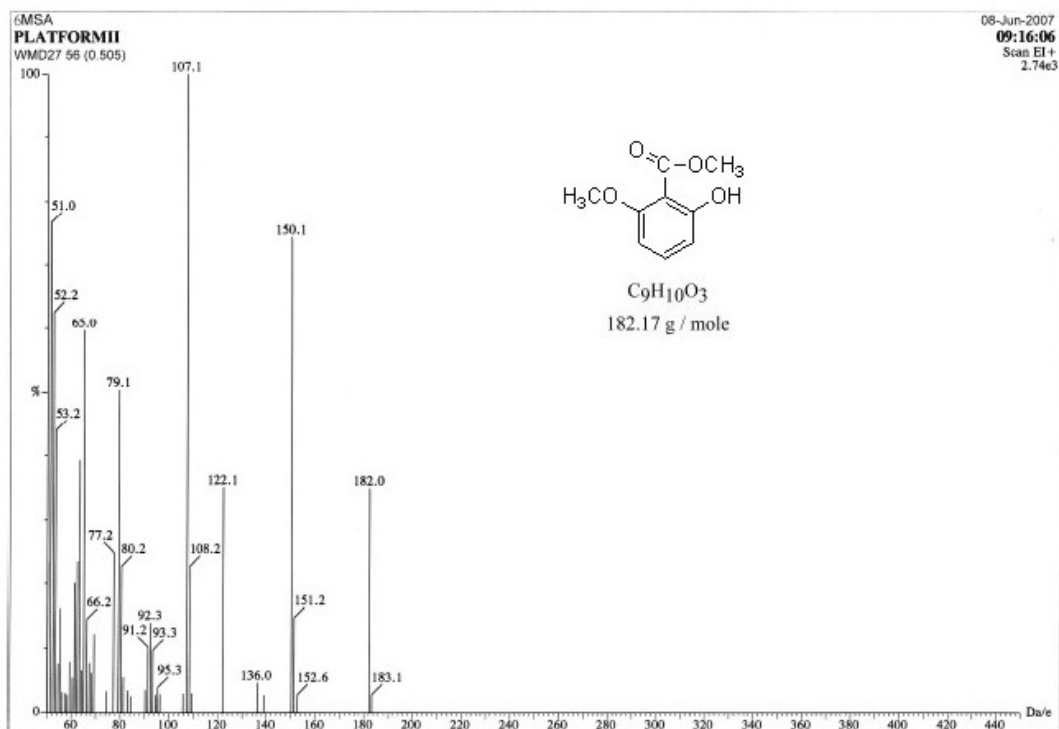


圖 28-1 MS spectrum of compound 28



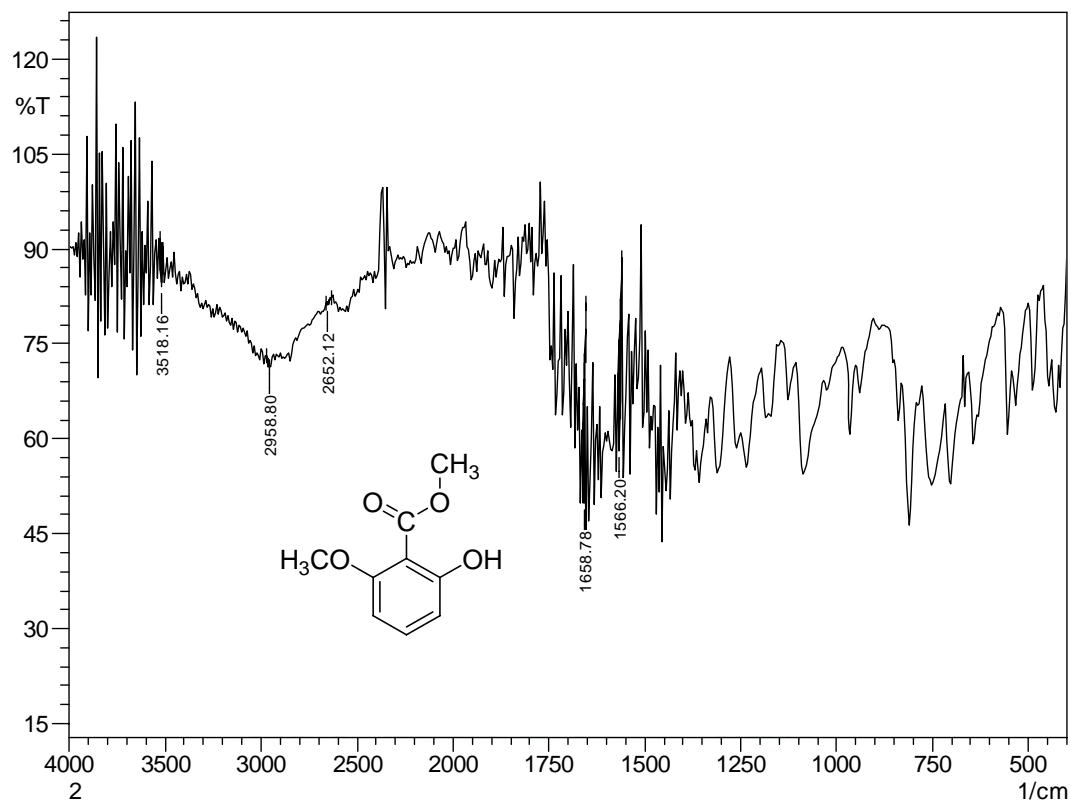


圖 28-2 IR spectrum of compound 28

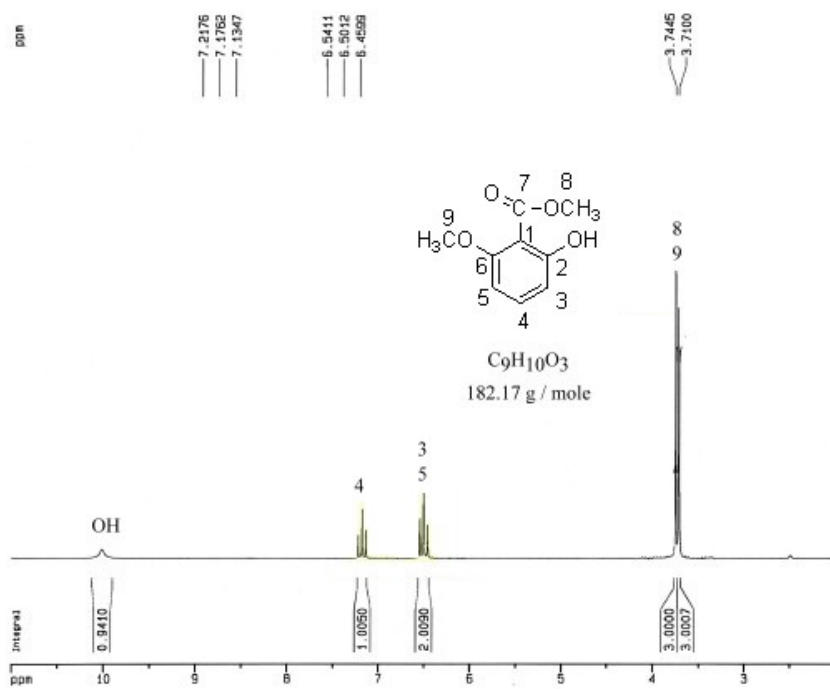


圖 28-3  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 28

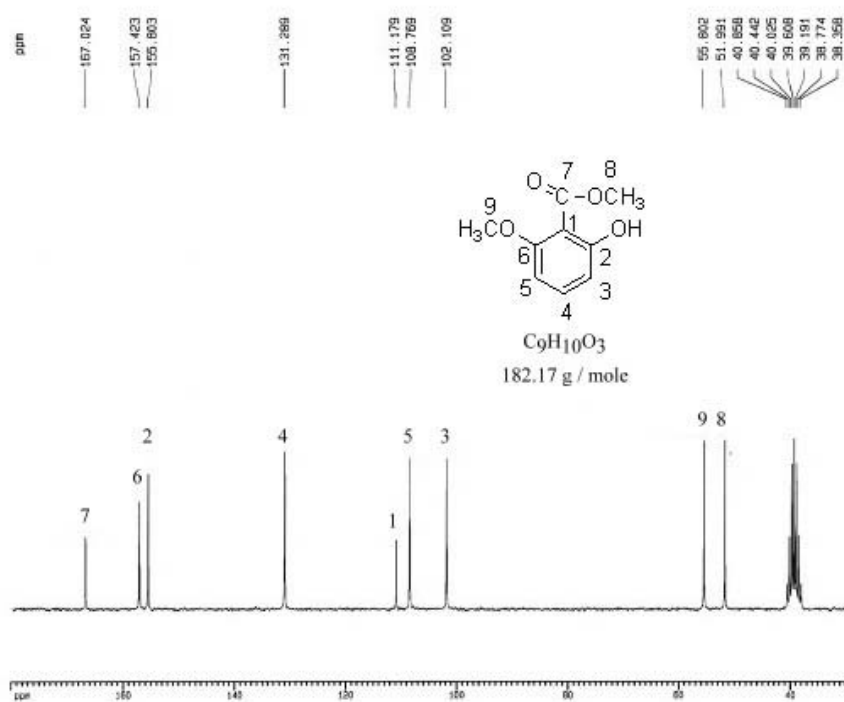


圖 28-4  $^{13}C$ -NMR (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 28

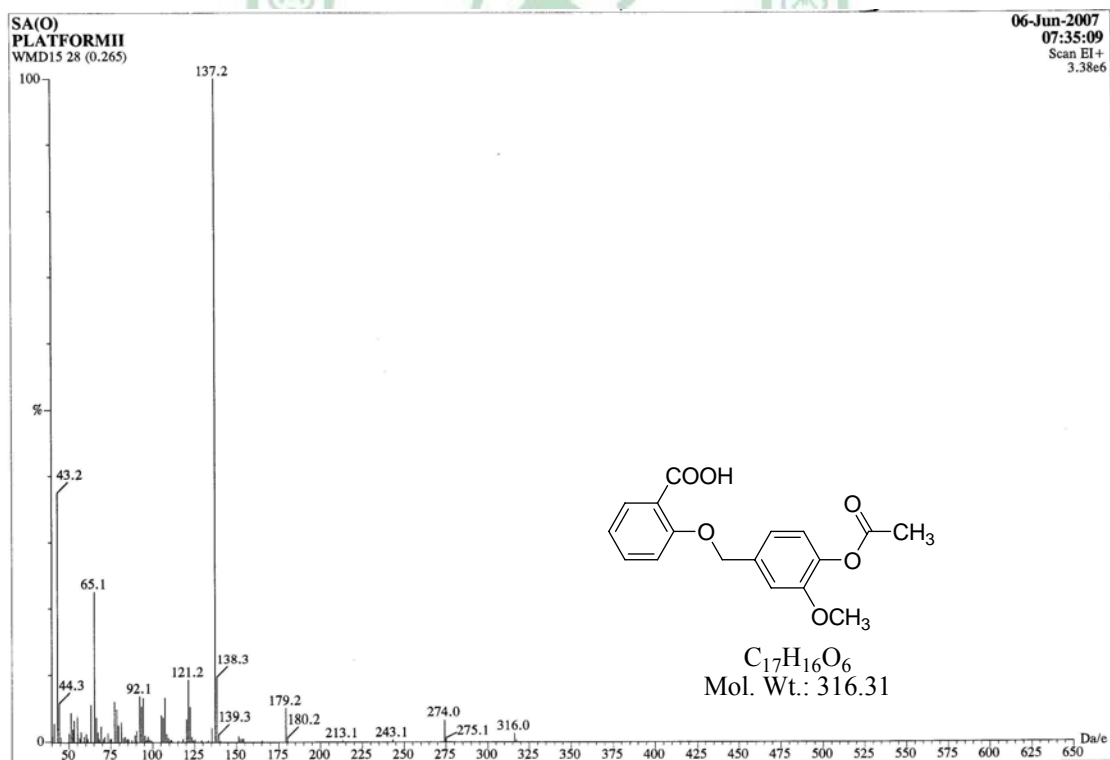


圖 34-1 MS spectrum of compound 34

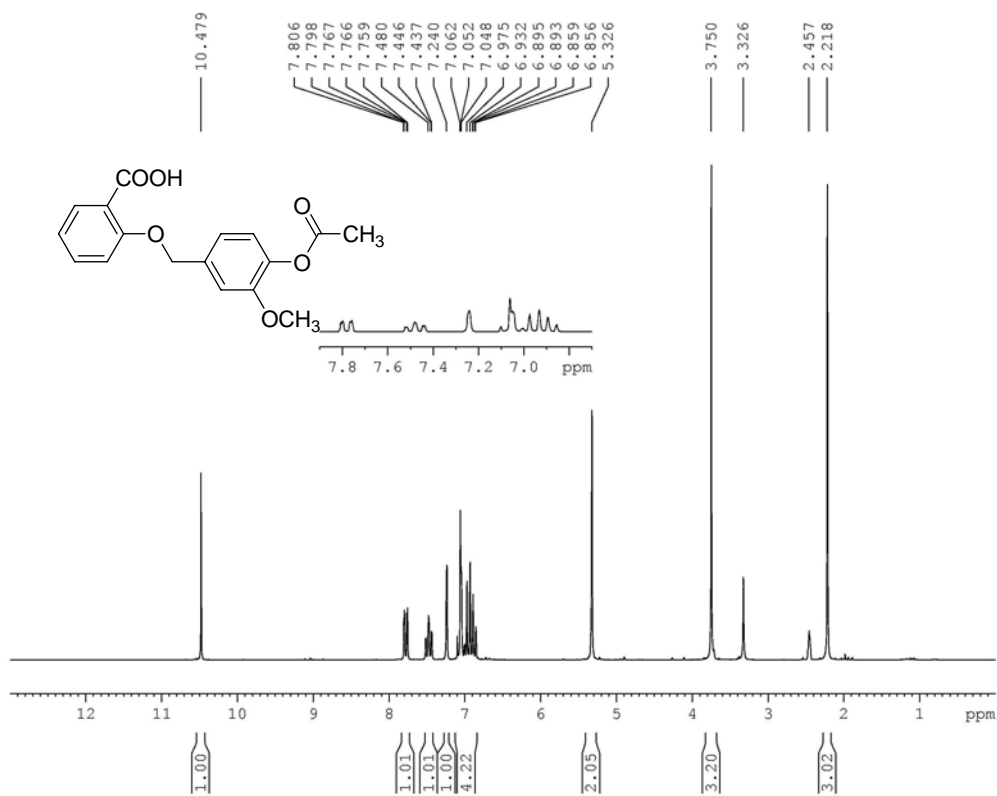


圖 34-2  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 34

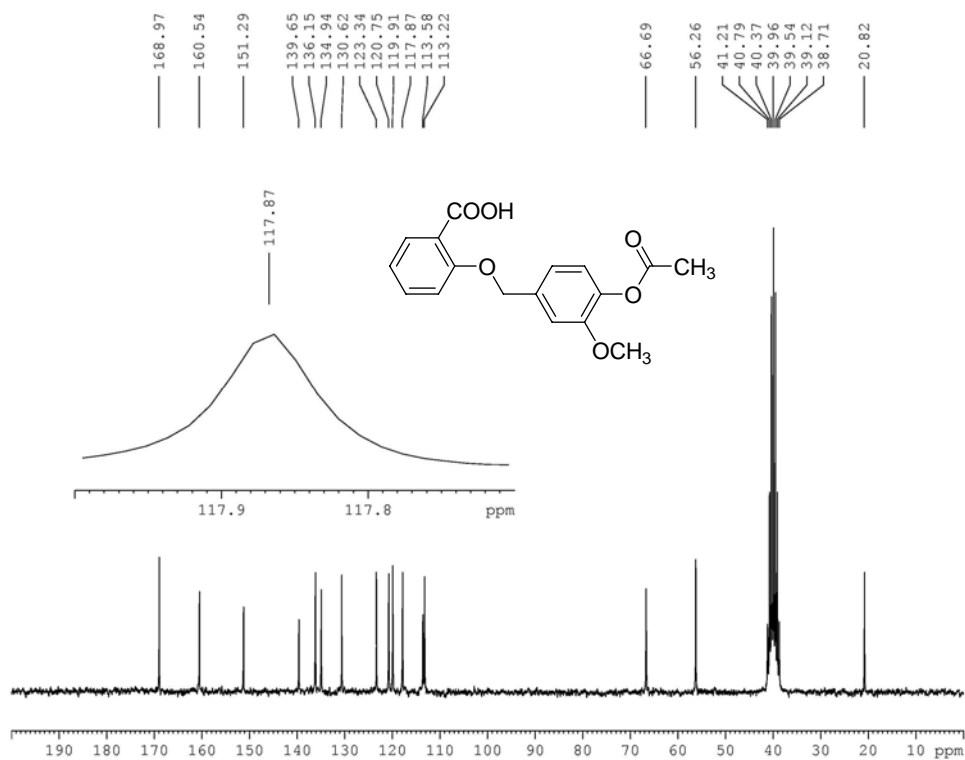


圖 34-3  $^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 34

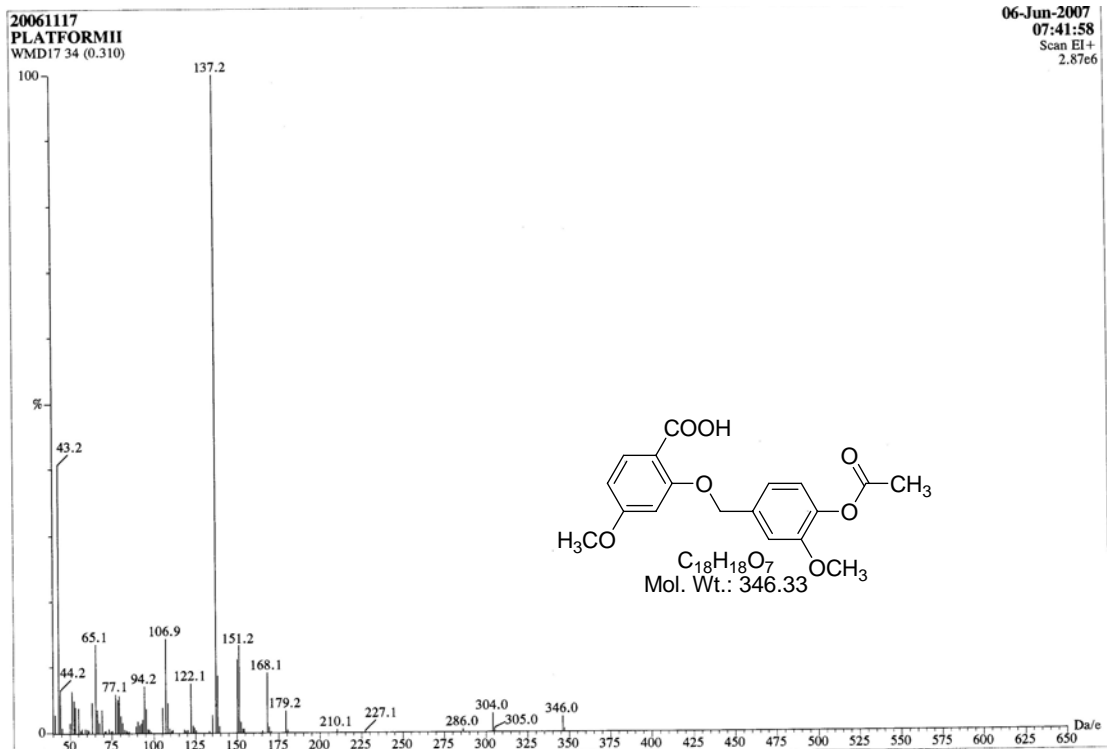


圖 35-1 MS spectrum of compound 35

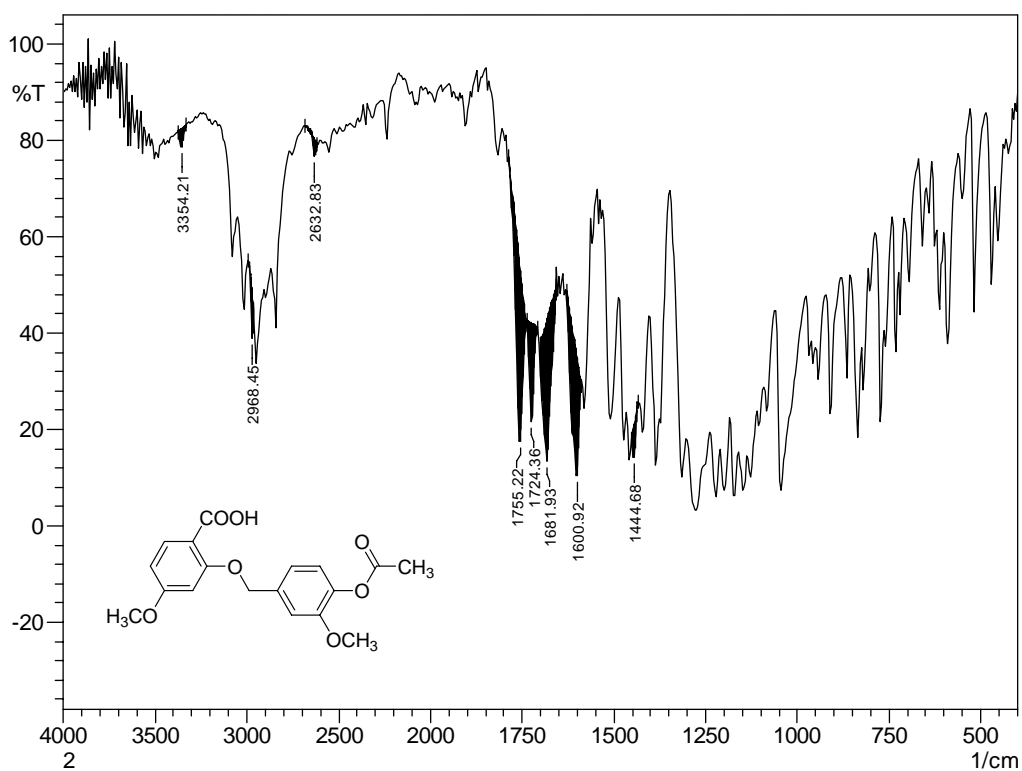
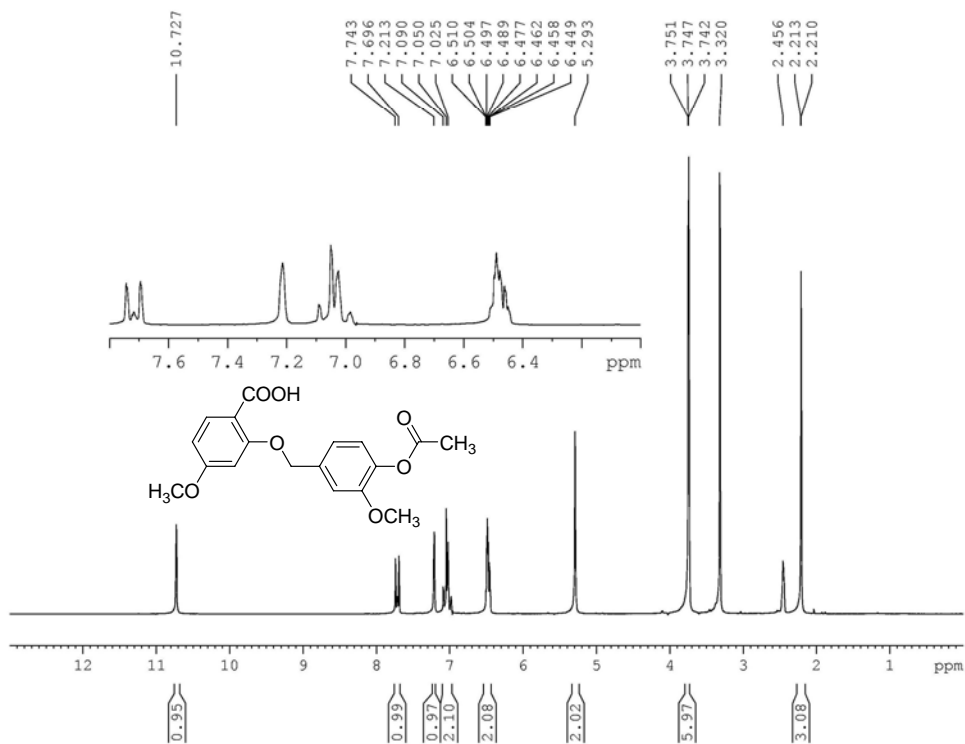


圖 35-2 IR spectrum of compound 35



35-3  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 35

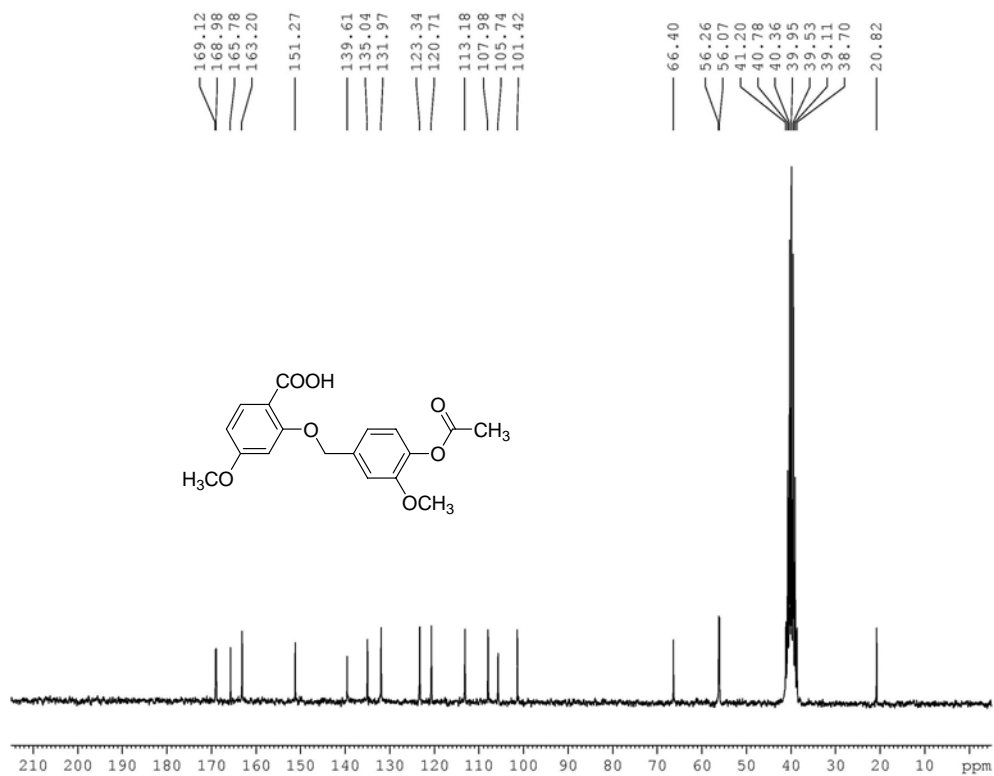


圖 35-4  $^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 35

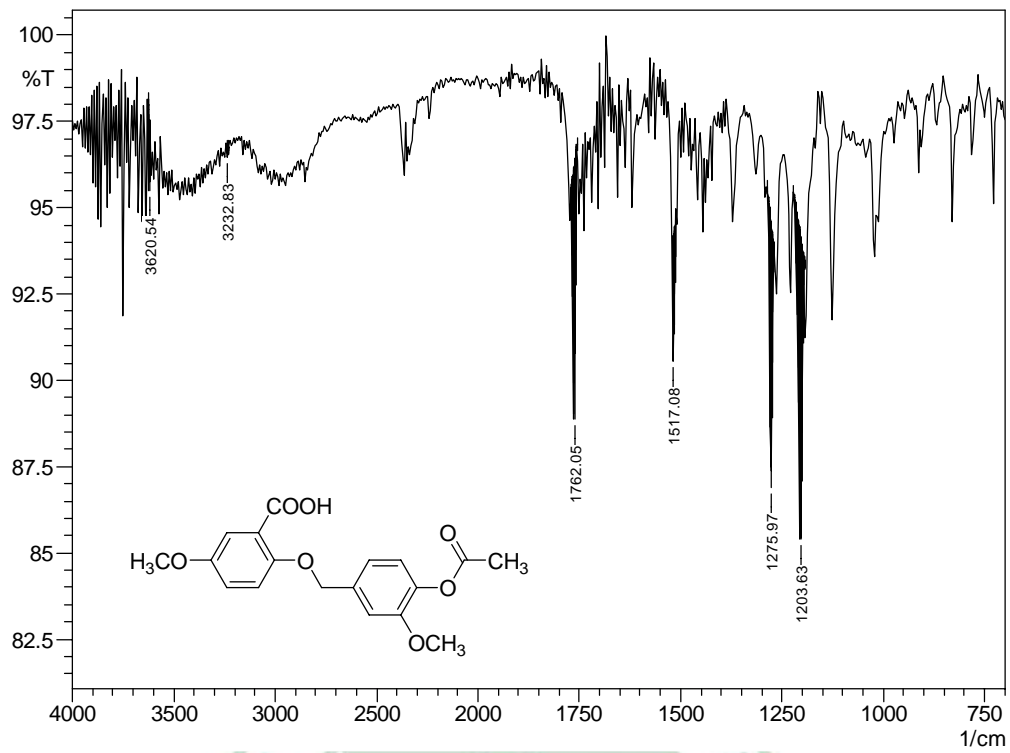


圖 36-1 IR spectrum of compound 36

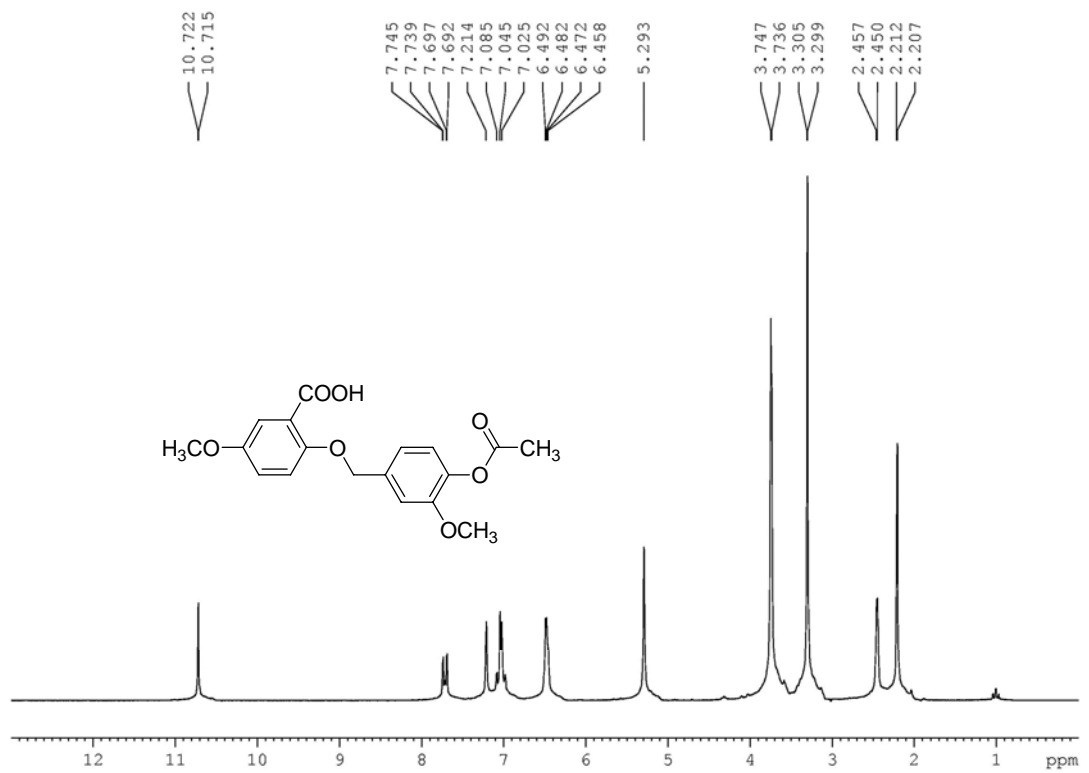


圖 36-2  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 36

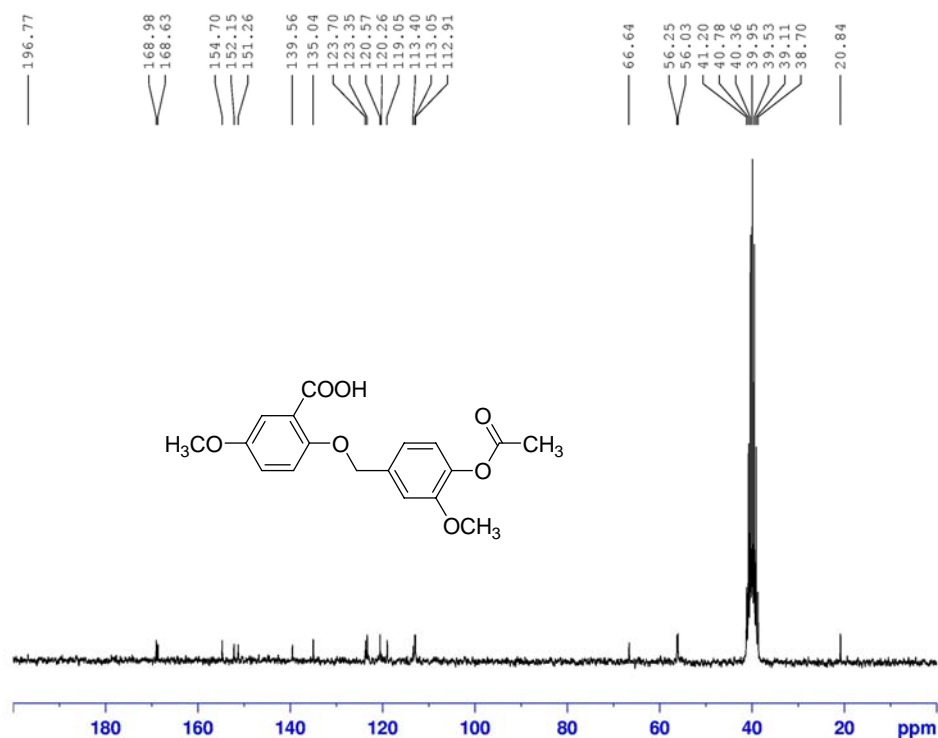


圖 36-3  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 36

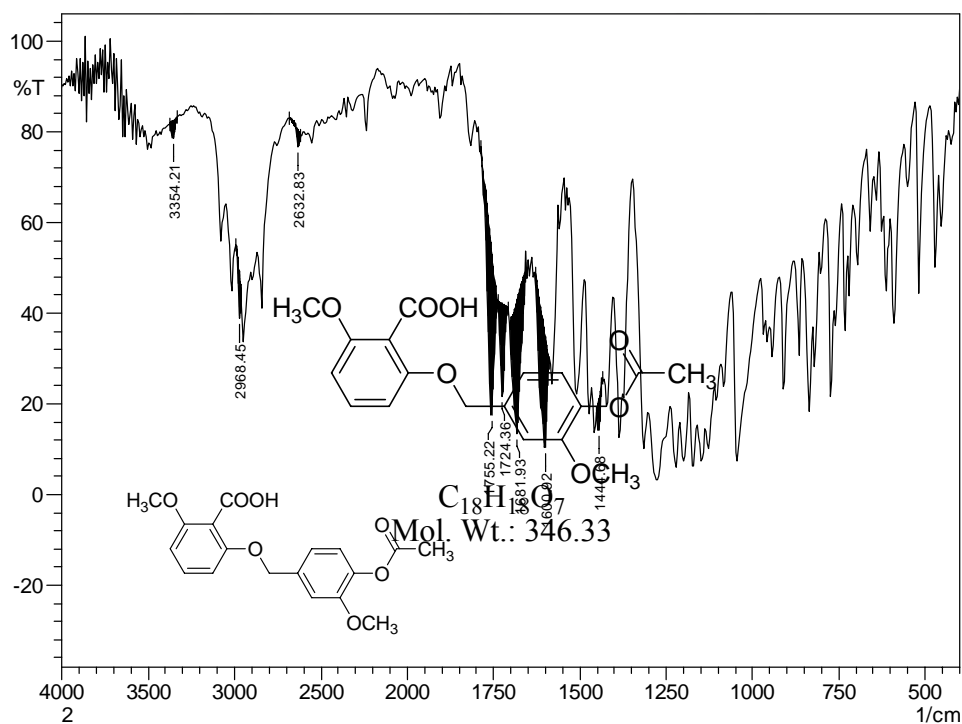


圖 37-1 IR spectrum of compound 37

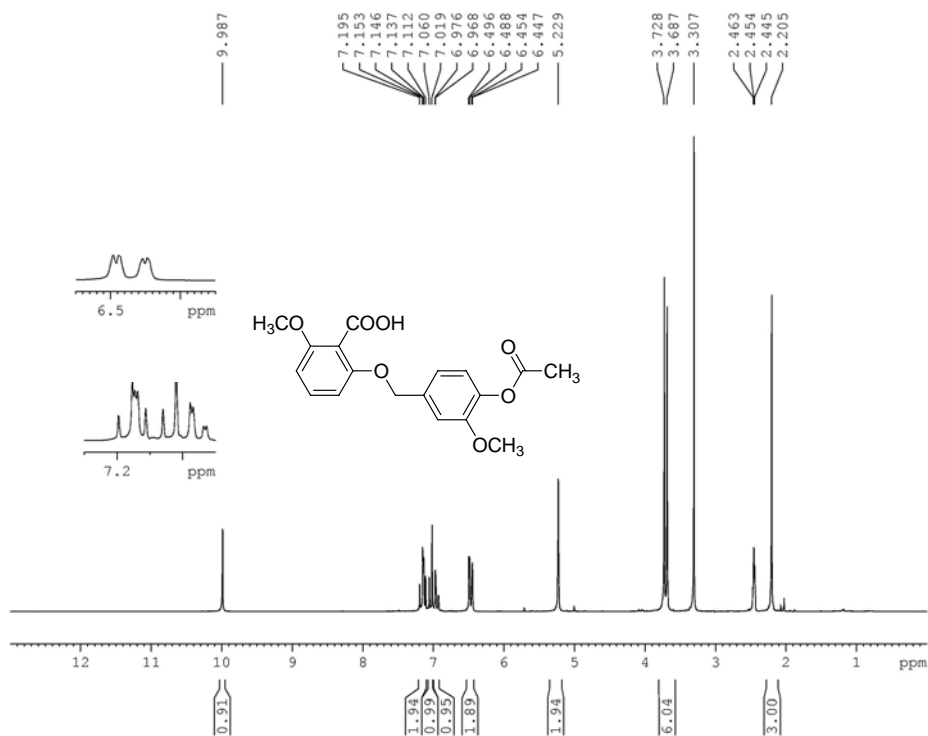


圖 37-2  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 37

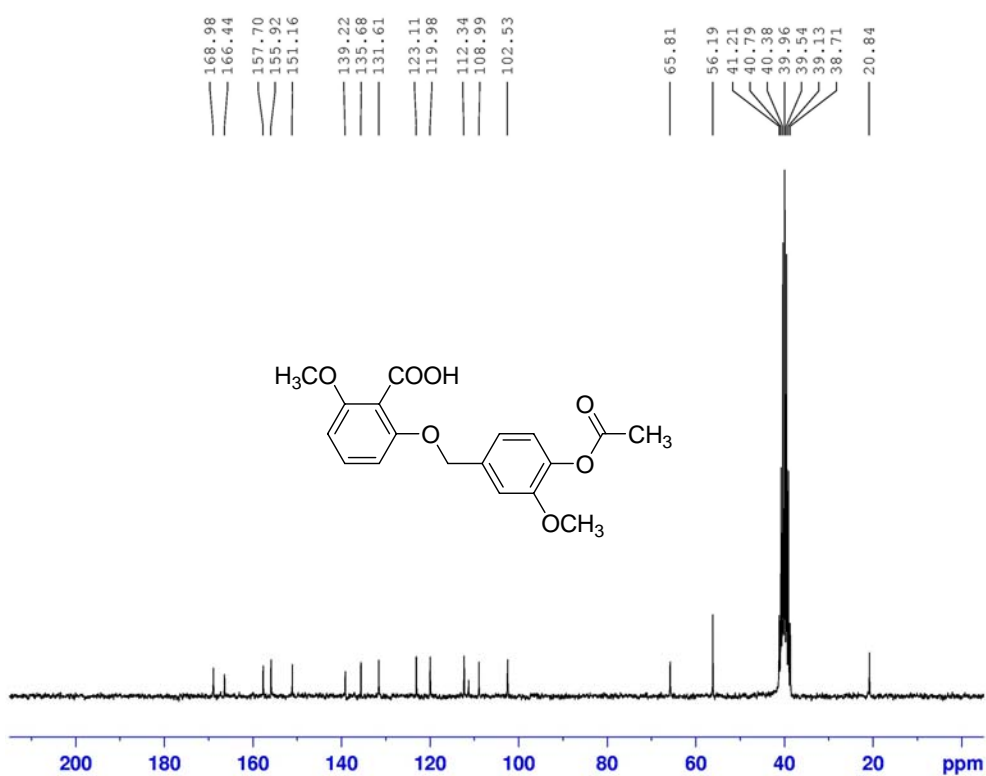


圖 37-3  $^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 37



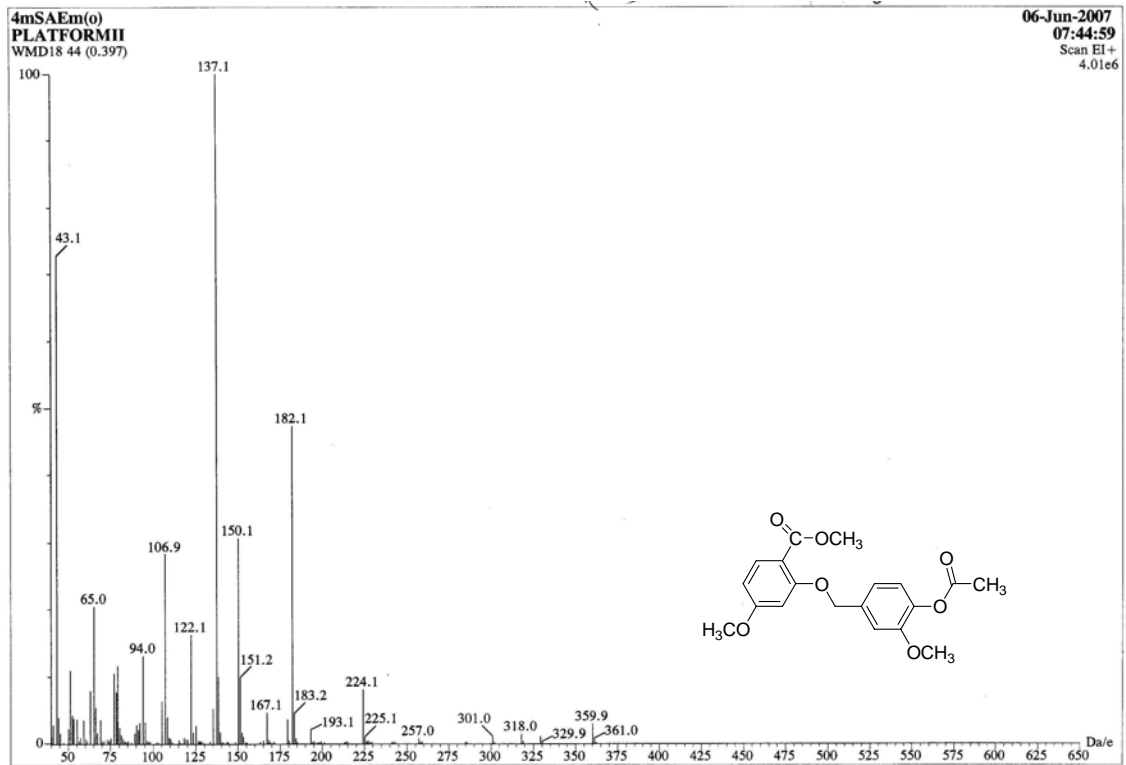


圖 38-1 MASS spectrum of compound 38

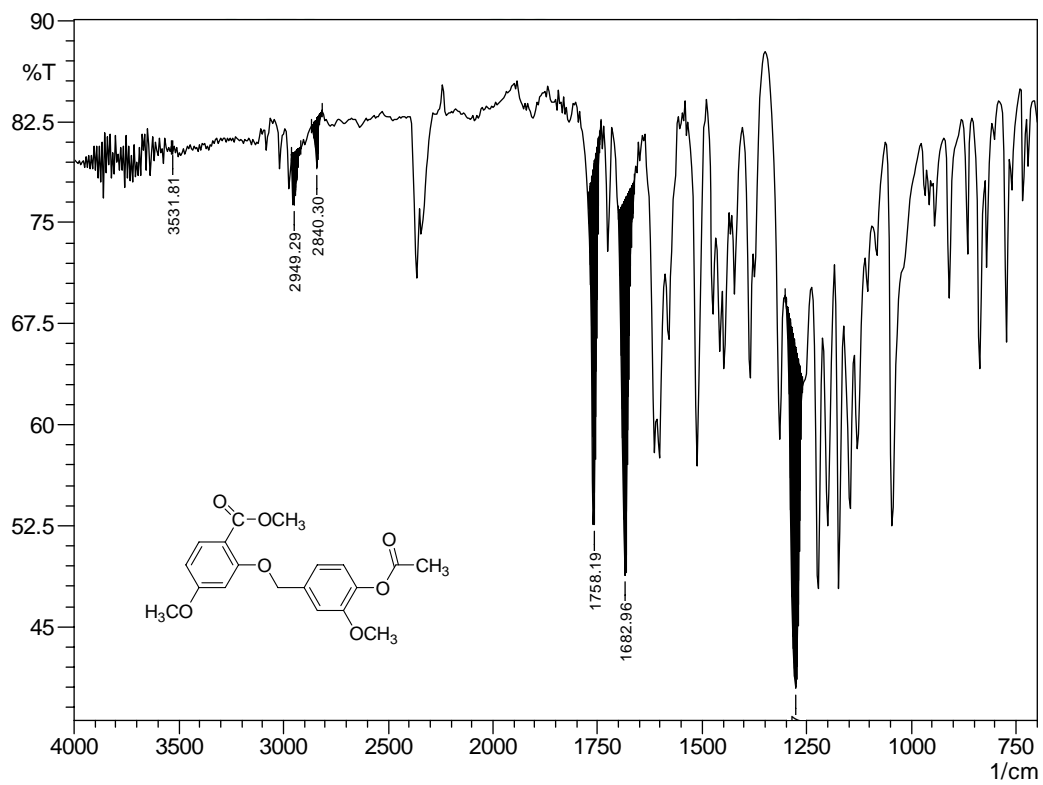


圖 38-2 IR spectrum of compound 38

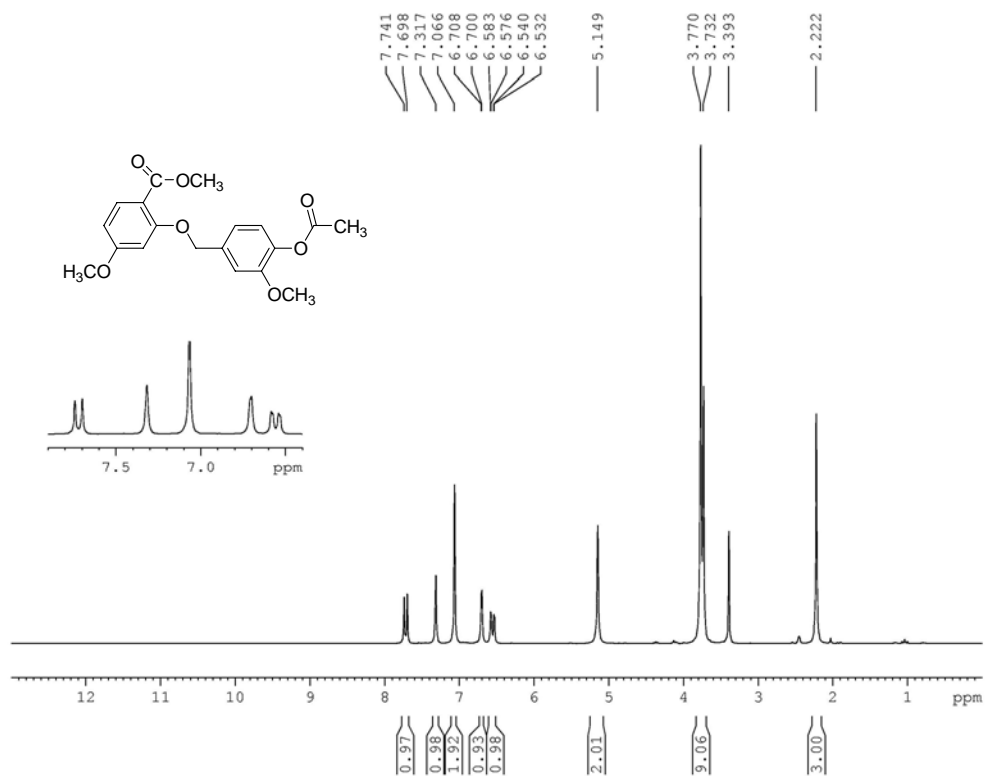


圖 38-3  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 38

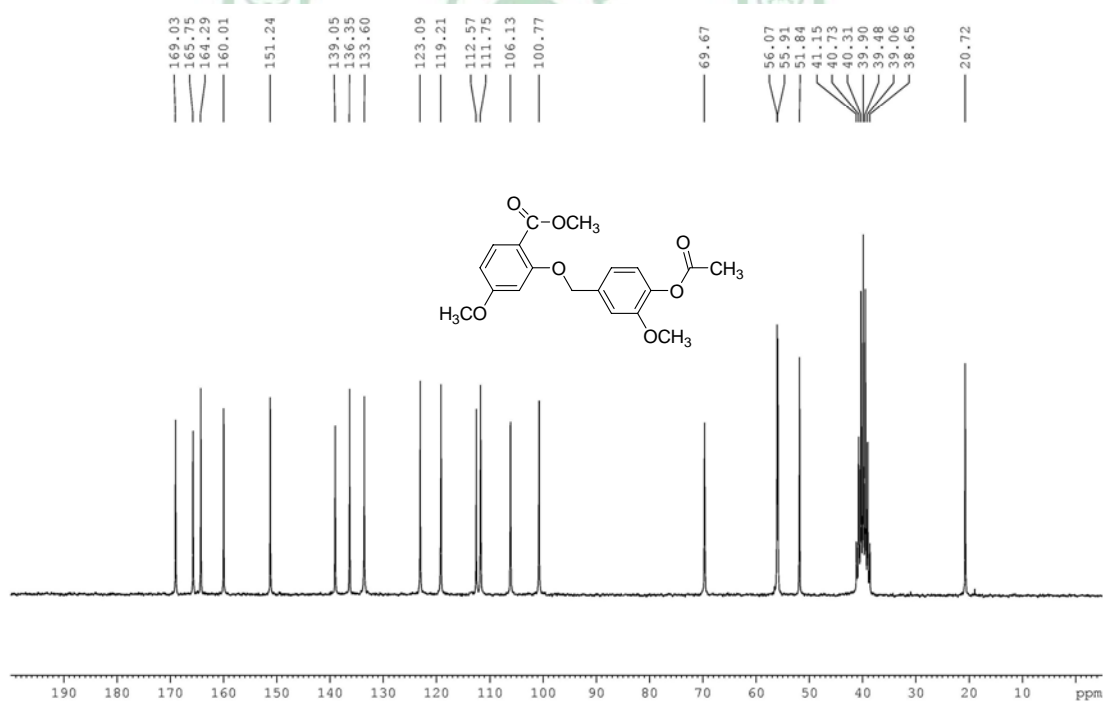


圖 38-4  $^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 38

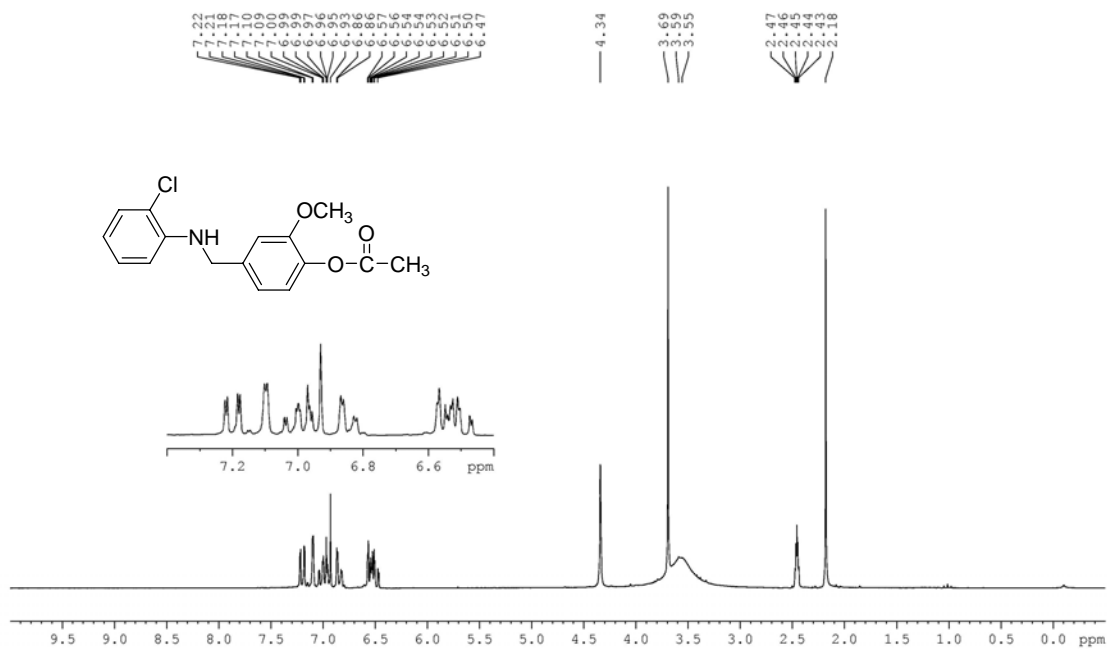


圖 42-1 <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 200MHz) spectrum of compound 42

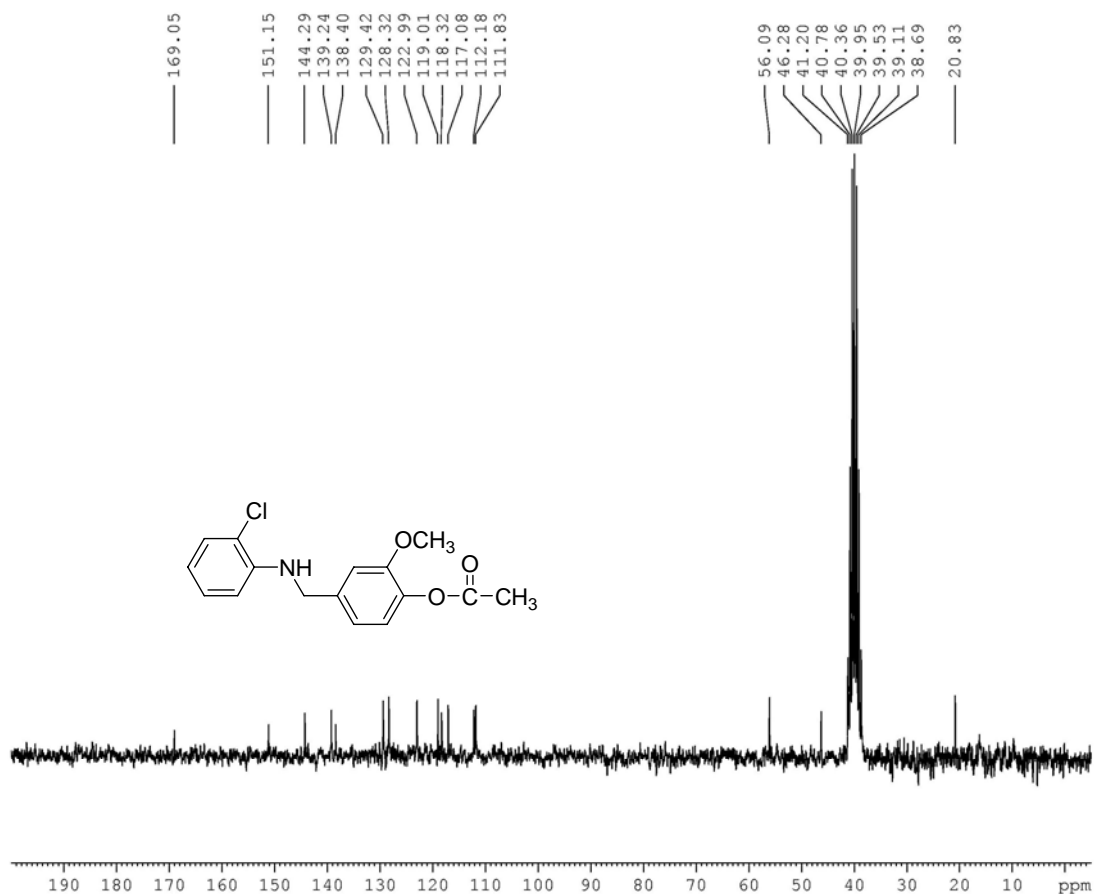


圖 42-2  $^{13}\text{C}$ -NMR (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 42

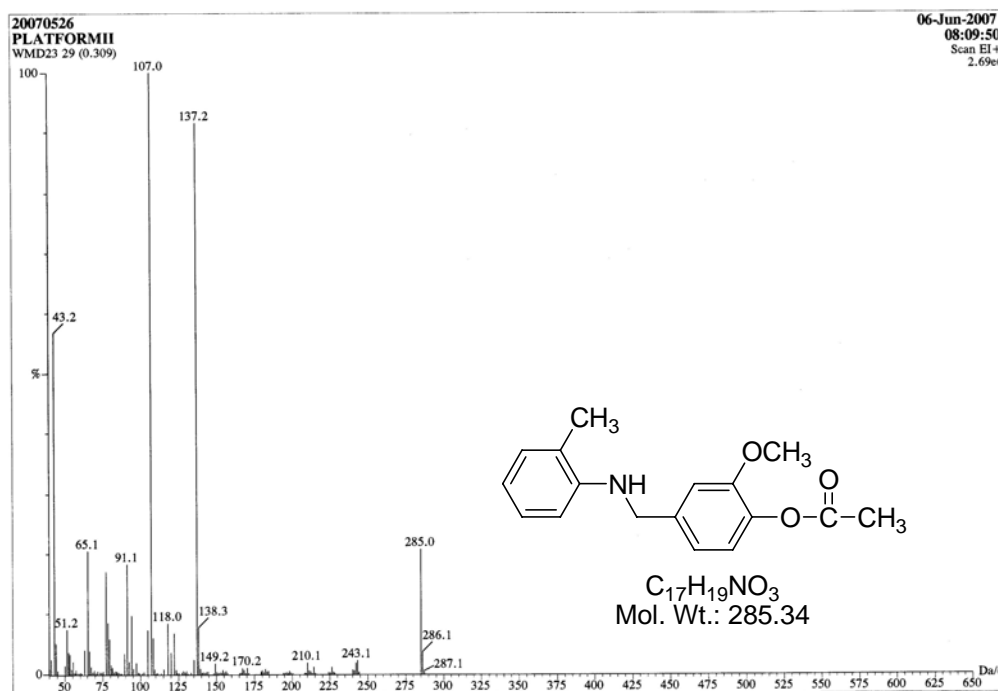


圖 43-1 MS spectrum of compound 43

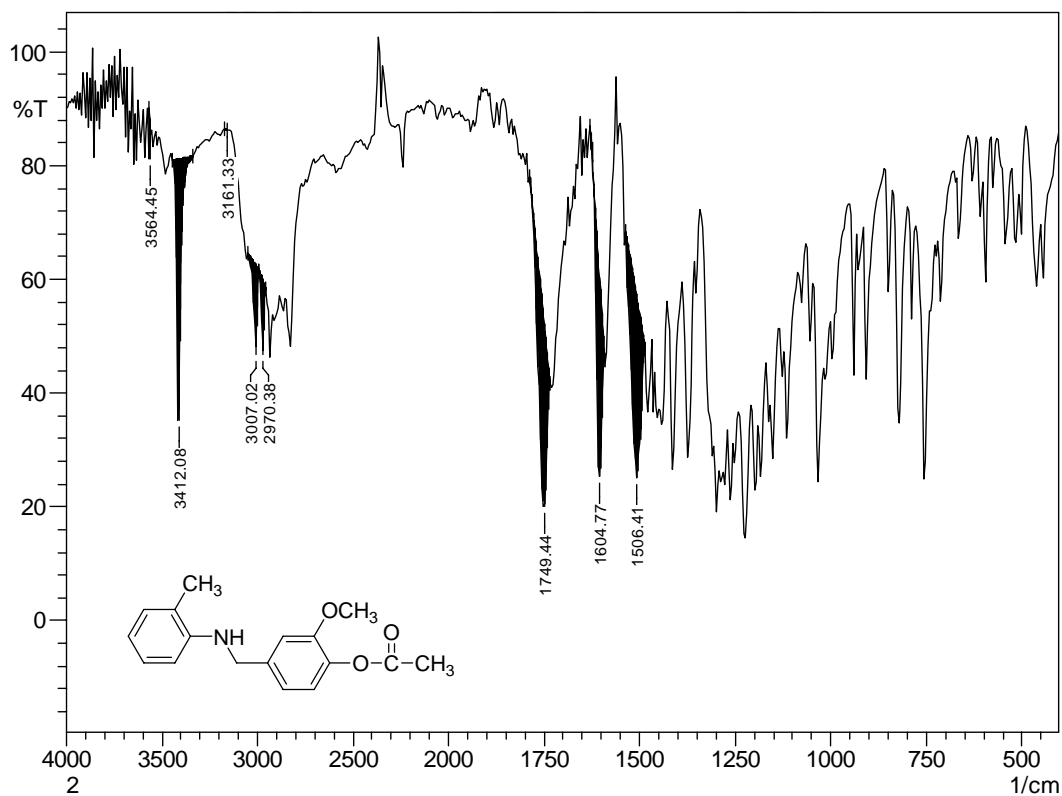


圖 43-2 IR spectrum of compound 43

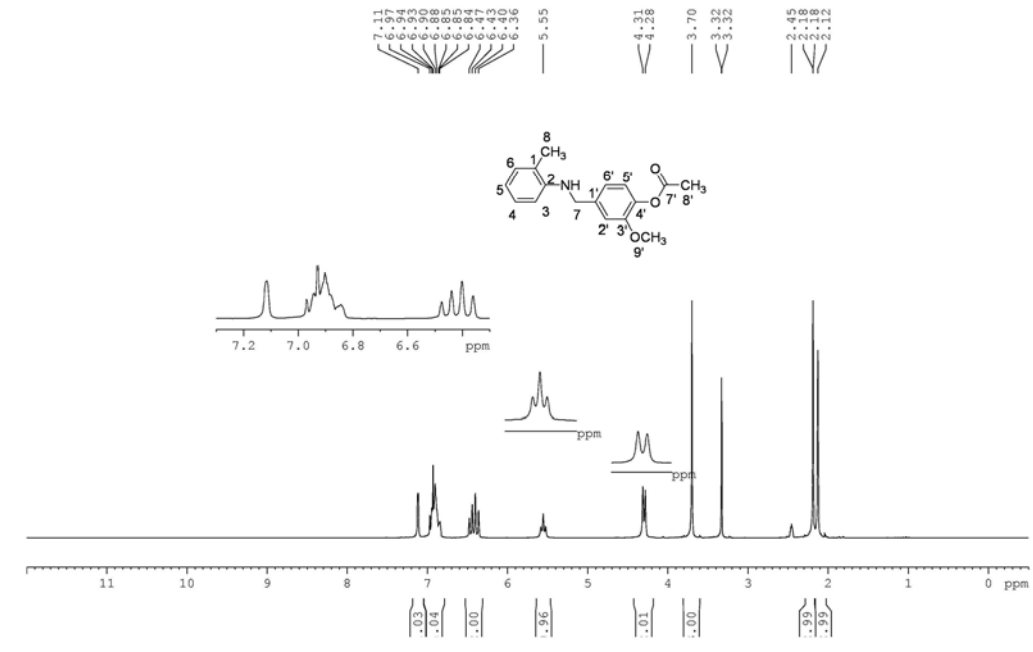


圖 43-3 <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 200MHz) spectrum of compound 43

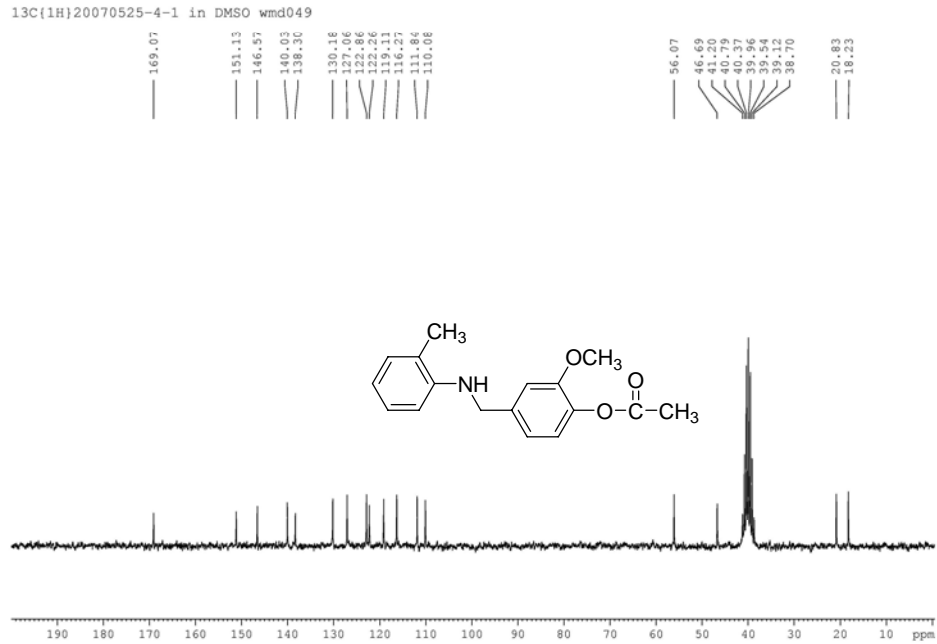


圖 43-4 <sup>13</sup>C-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 200MHz) spectrum of compound 43

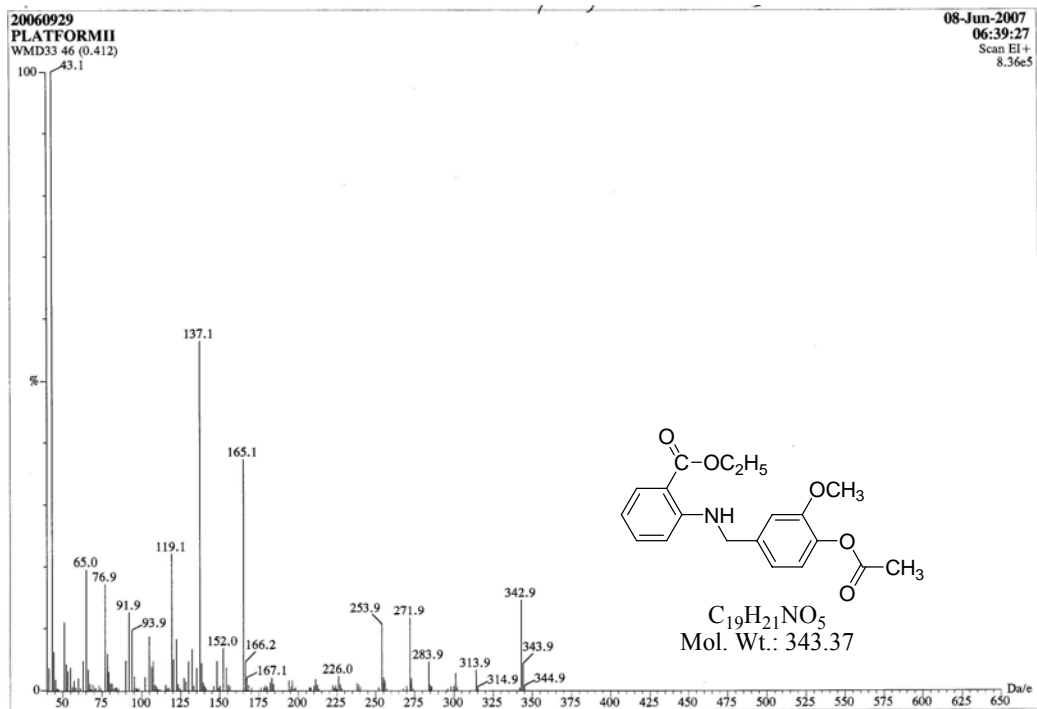


圖 44-1 MS spectrum of compound 44

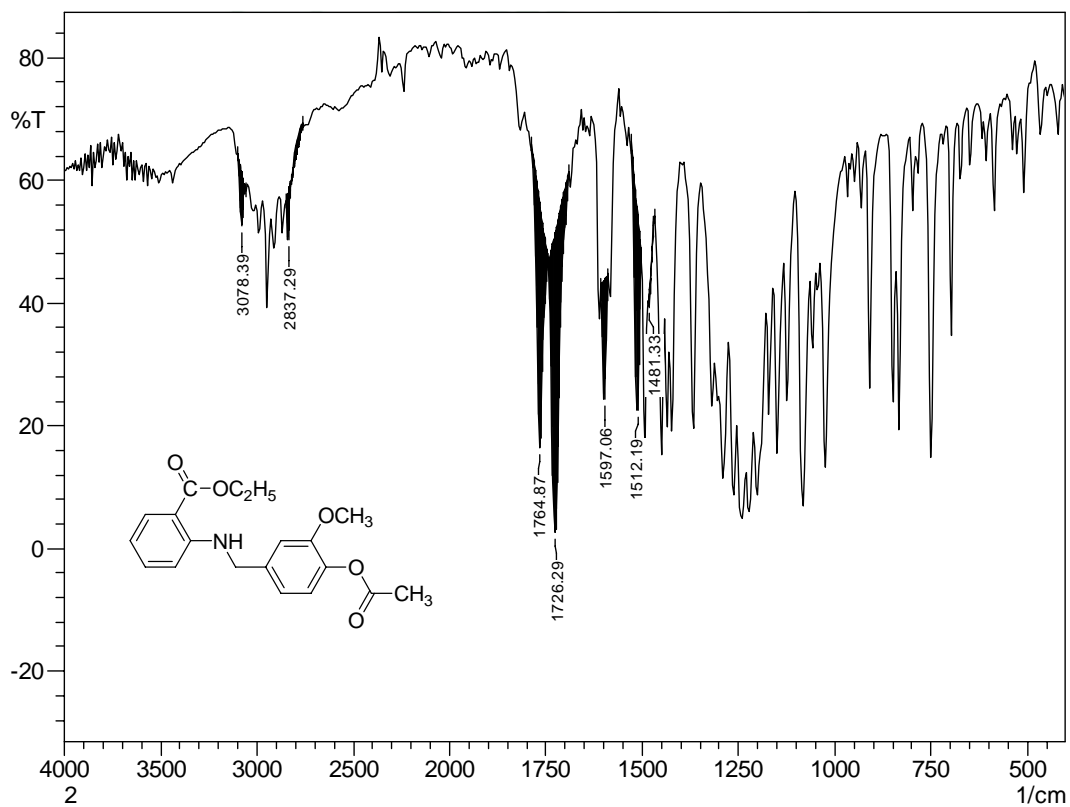


圖 44-2 IR spectrum of compound 44

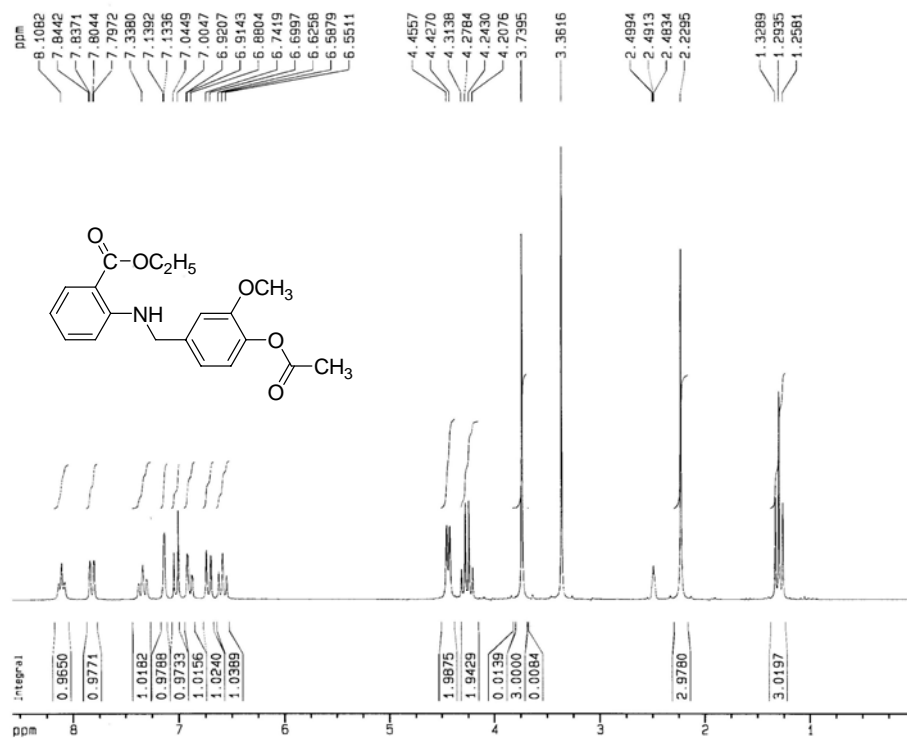


圖 44-3  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 44

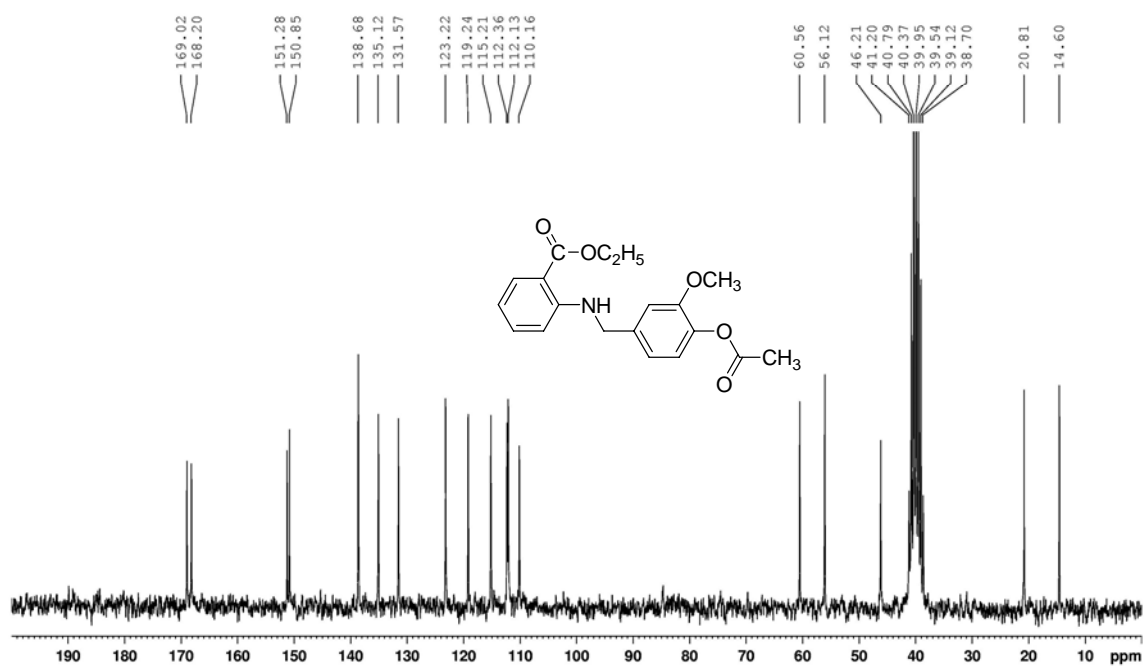


圖 44-4  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 44

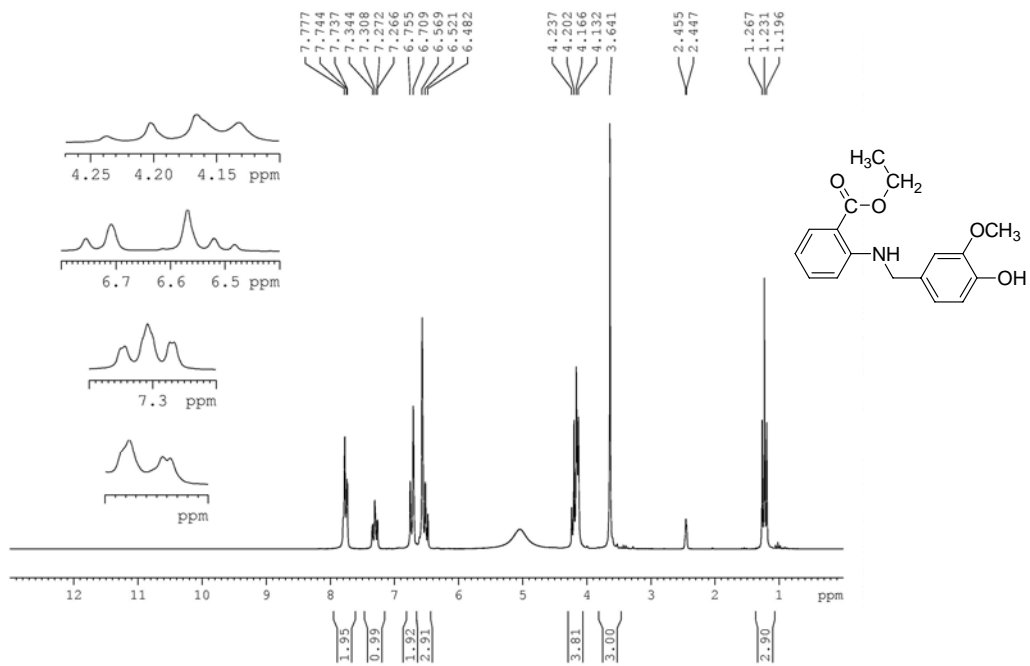


圖 45-1  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 45

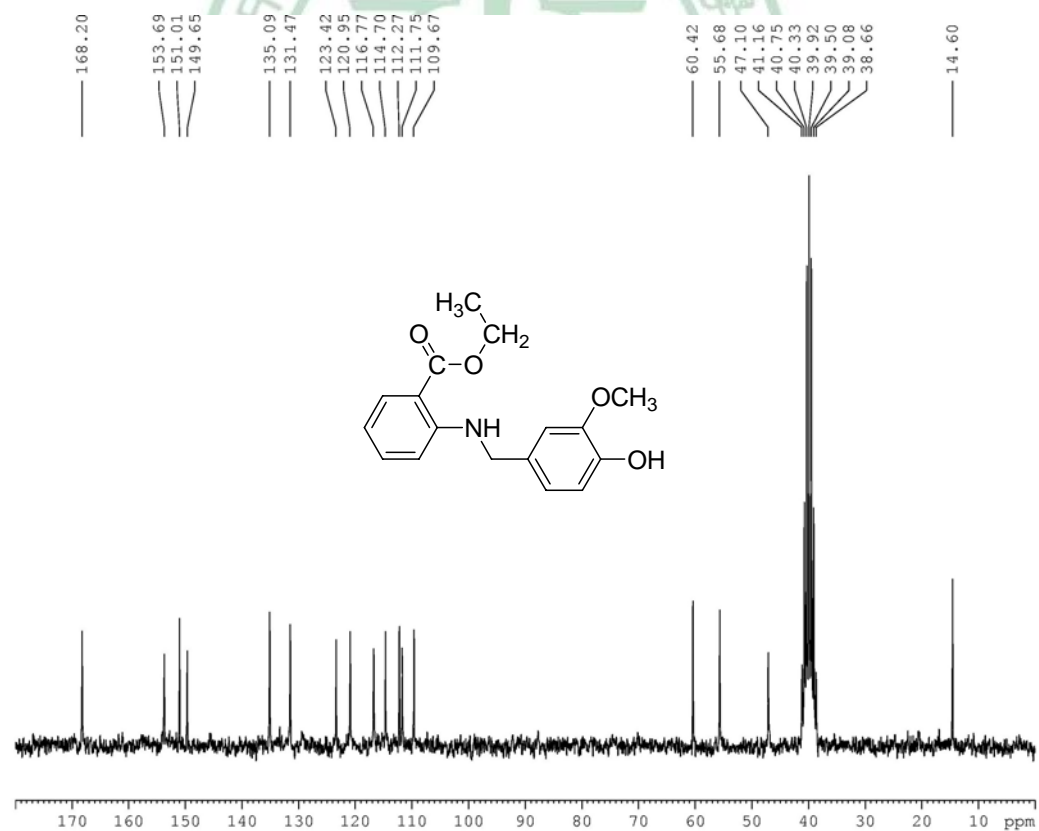


圖 45-2  $^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 45



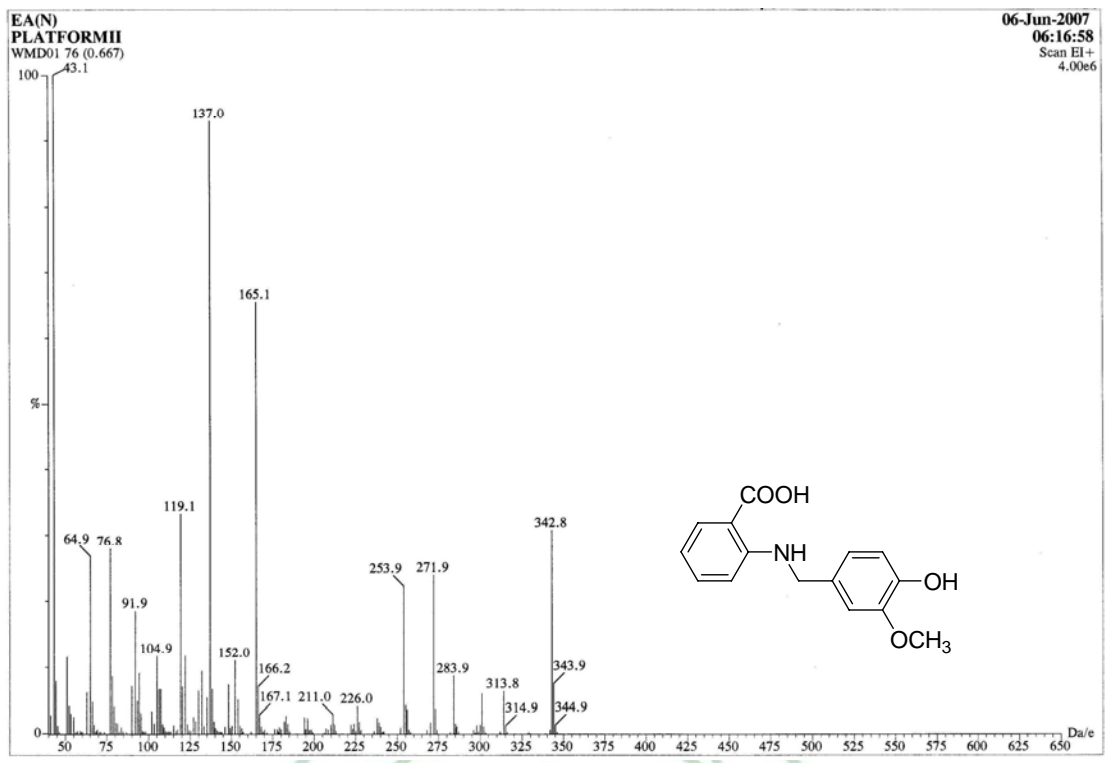


圖 46-1 MS spectrum of compound 46

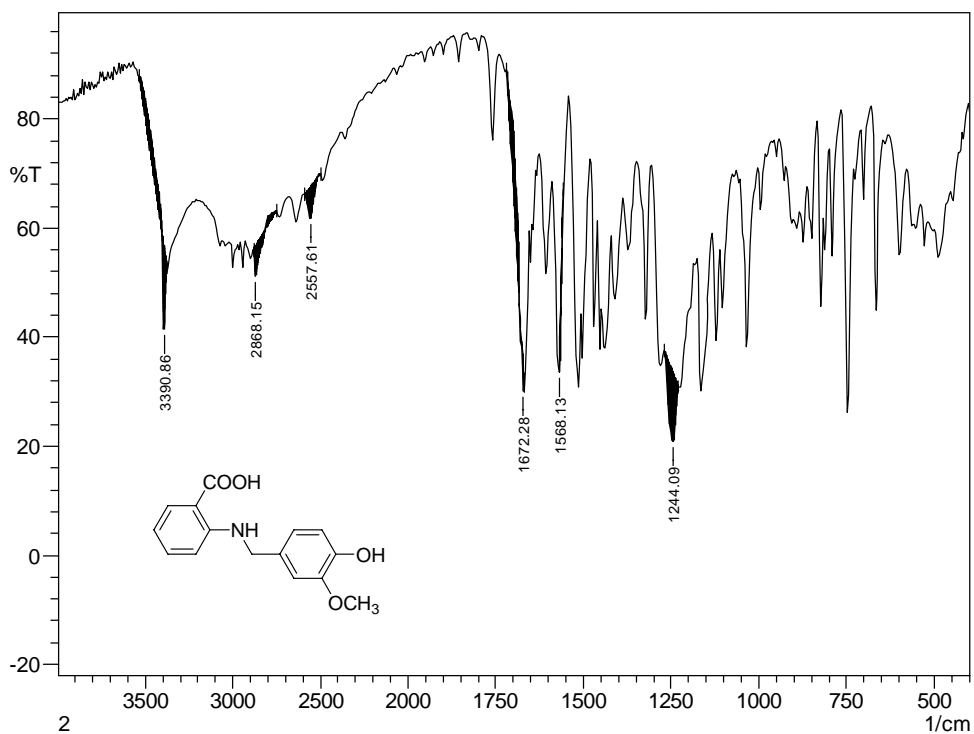


圖 46-2 IR spectrum of compound 46

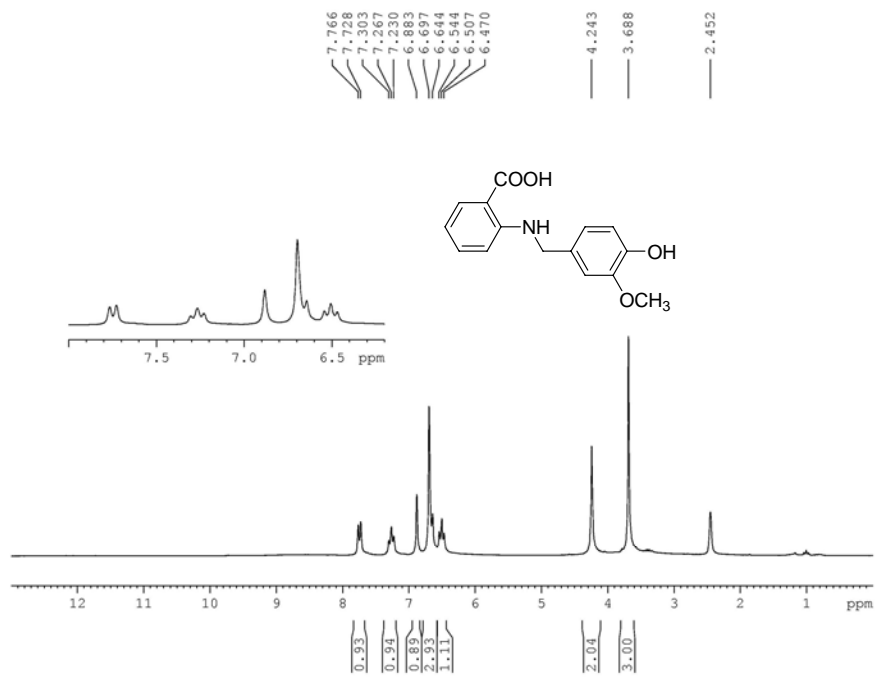


圖 46-3  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 46

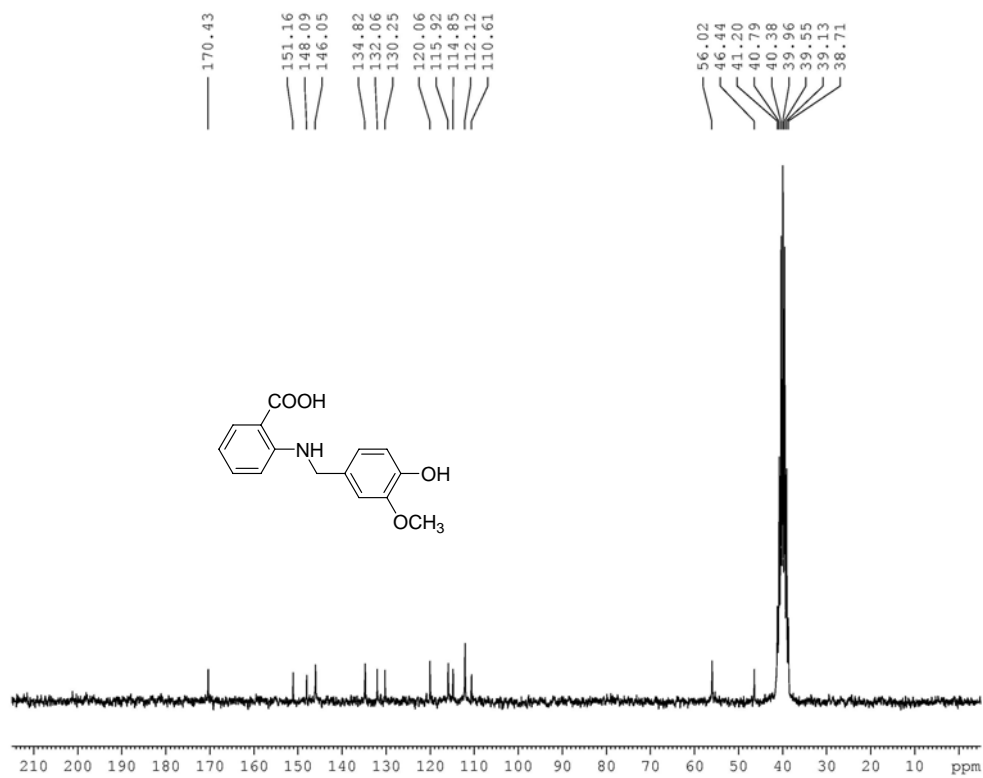


圖 46-4  $^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 46

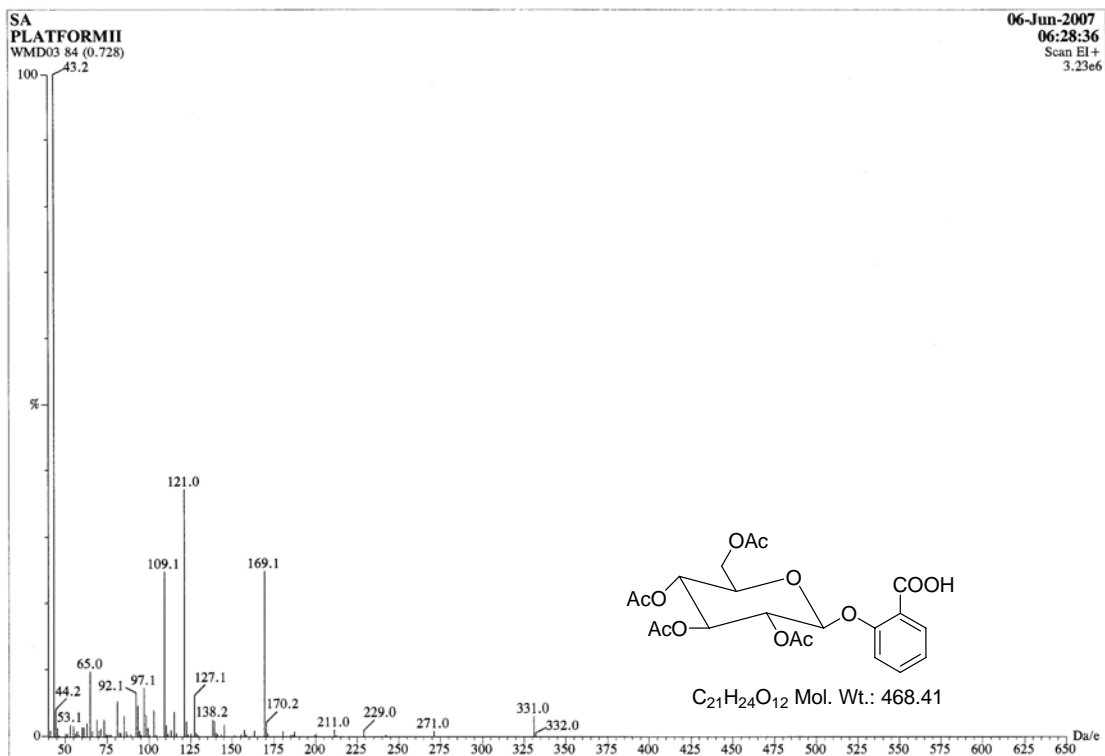


圖 49-1 MS spectrum of compound 49

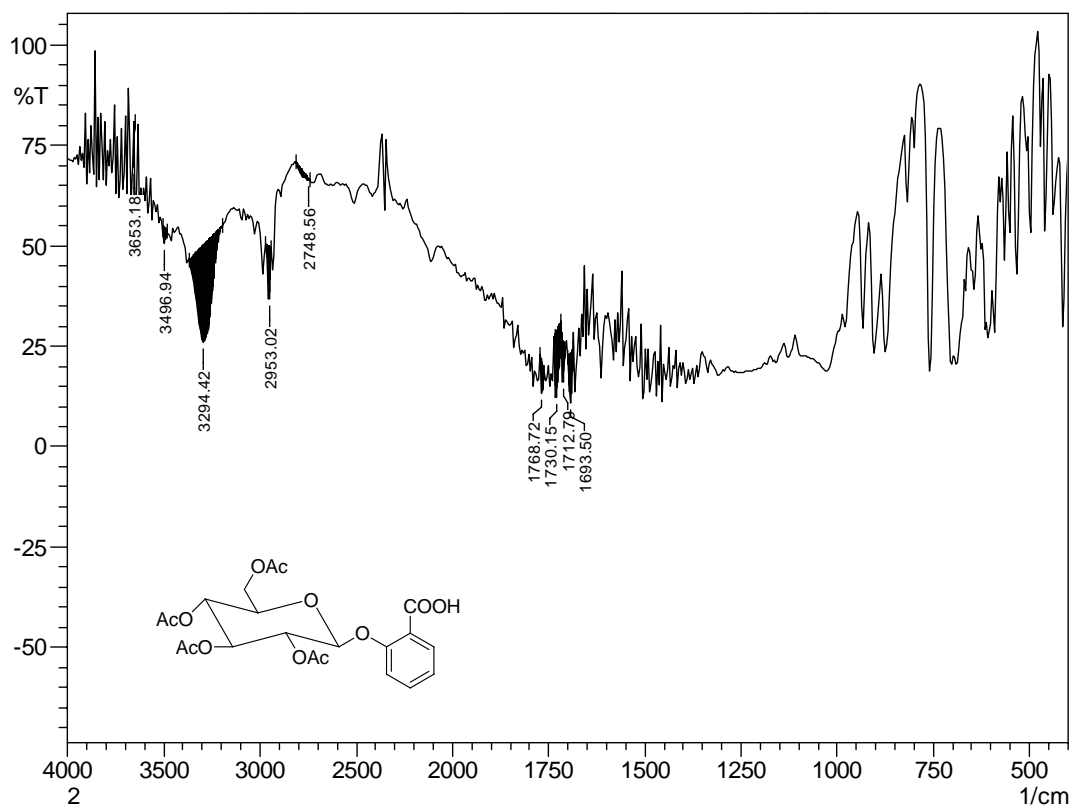


圖 49-2 IR spectrum of compound 49

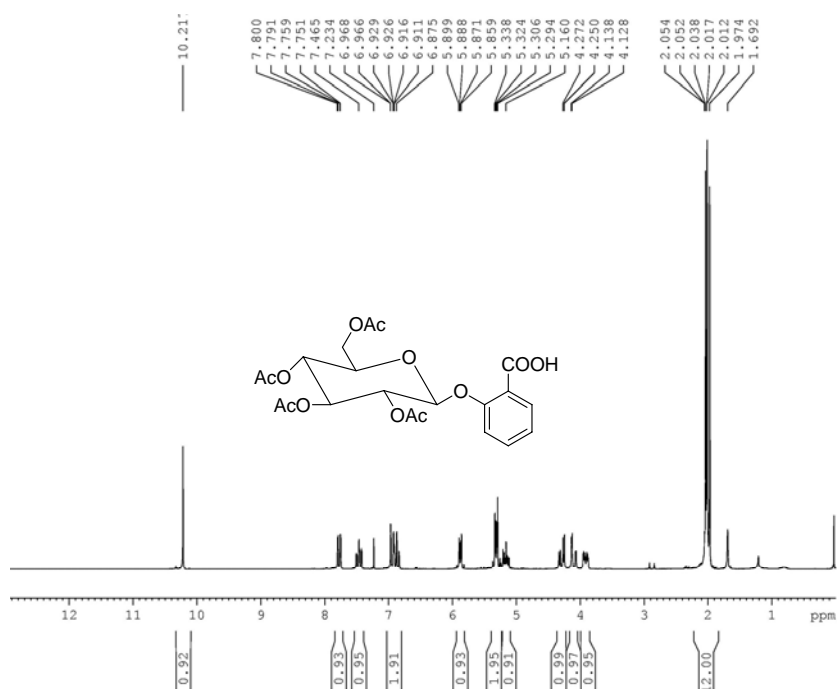


圖 49-3  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 49

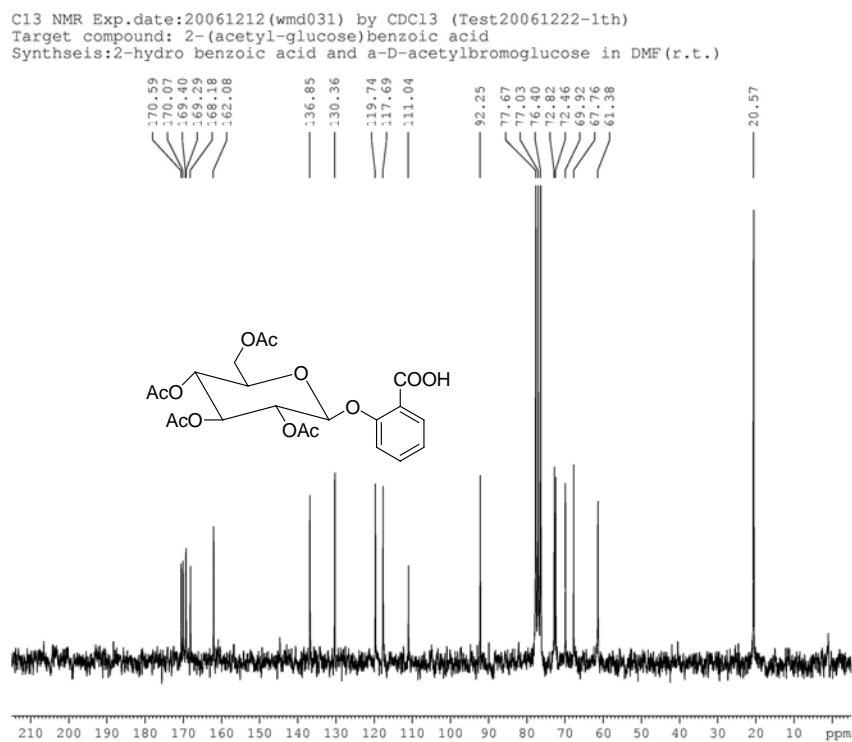


圖 49-4  $^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 49

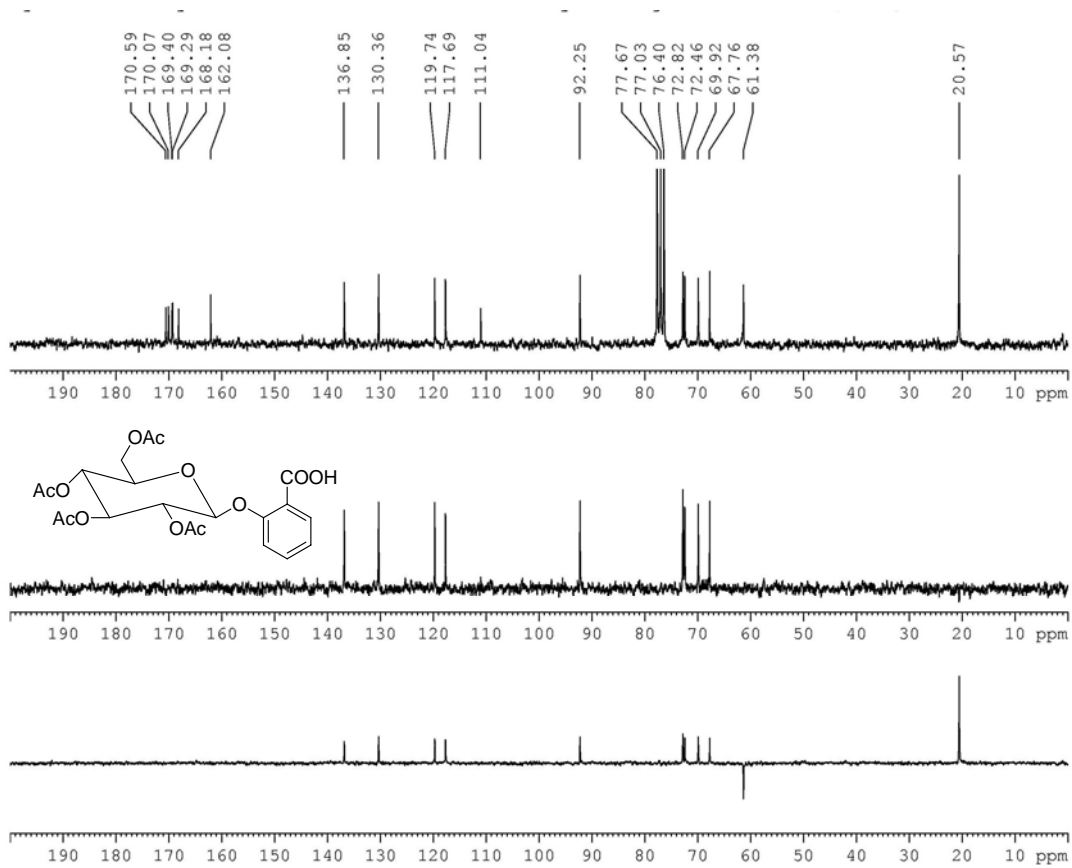


圖 49-5  $^{13}\text{C}$ -DEPT (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 49

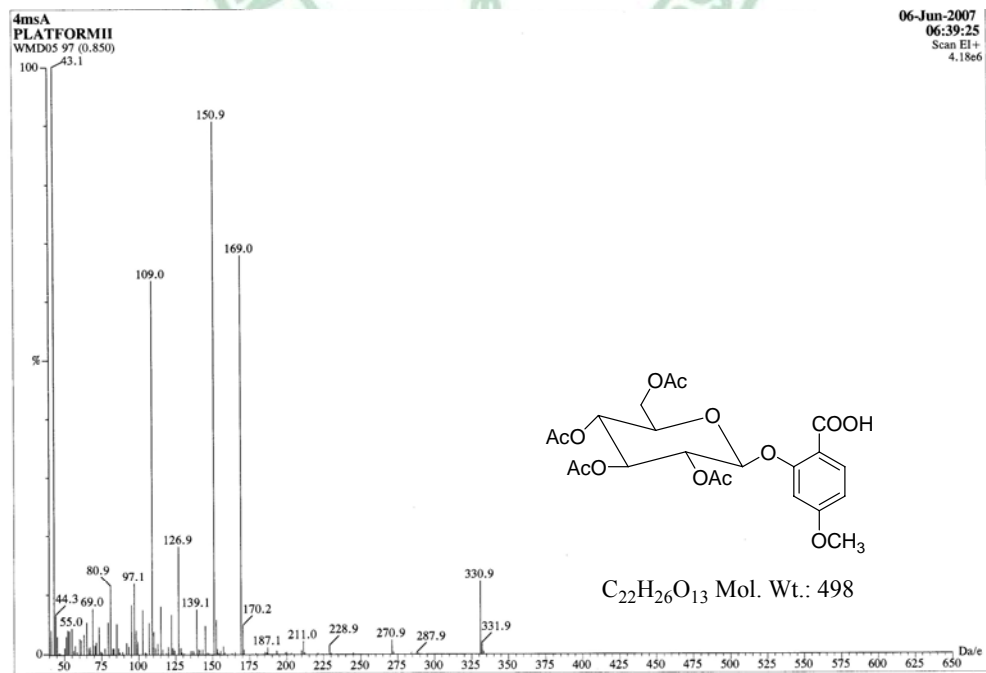


圖 50-1 MS spectrum of compound 50

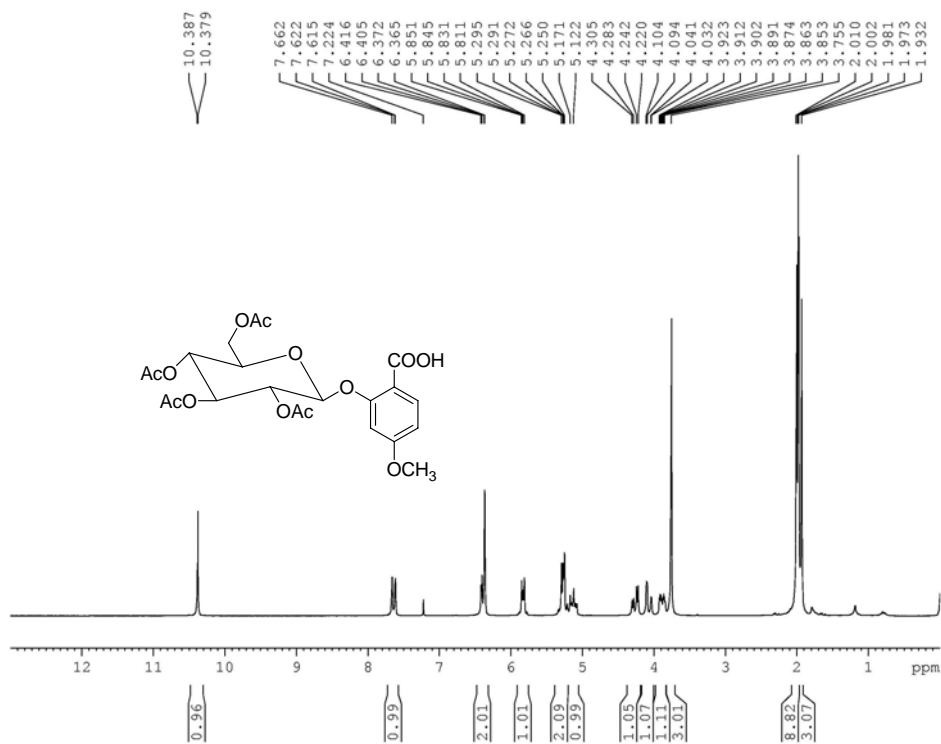


圖 50-2  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 50

C13 NMR Exp.date:20061214(wmd027) by CDC13 (Test20061211-1th)  
 Target compound: 2-(acetyl-glucose)-4-methoxy benzoic acid  
 Synthesis: 2-hydro-4-methoxy benzoic acid and a-D-acetylbromoglucose in DMF (r.t)

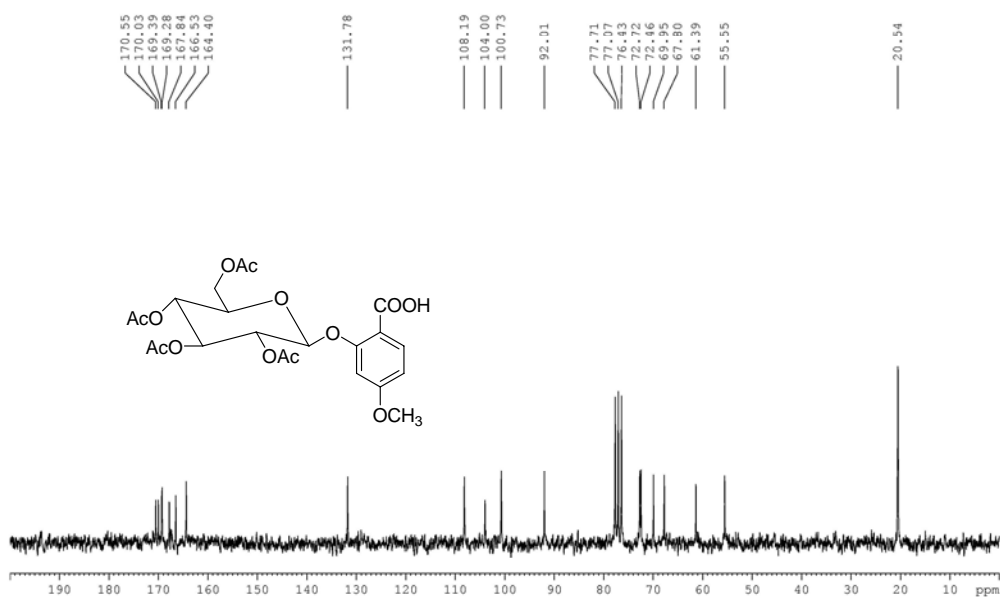


圖 50-3  $^{13}\text{C}$ -NMR (DMSO-  $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 50

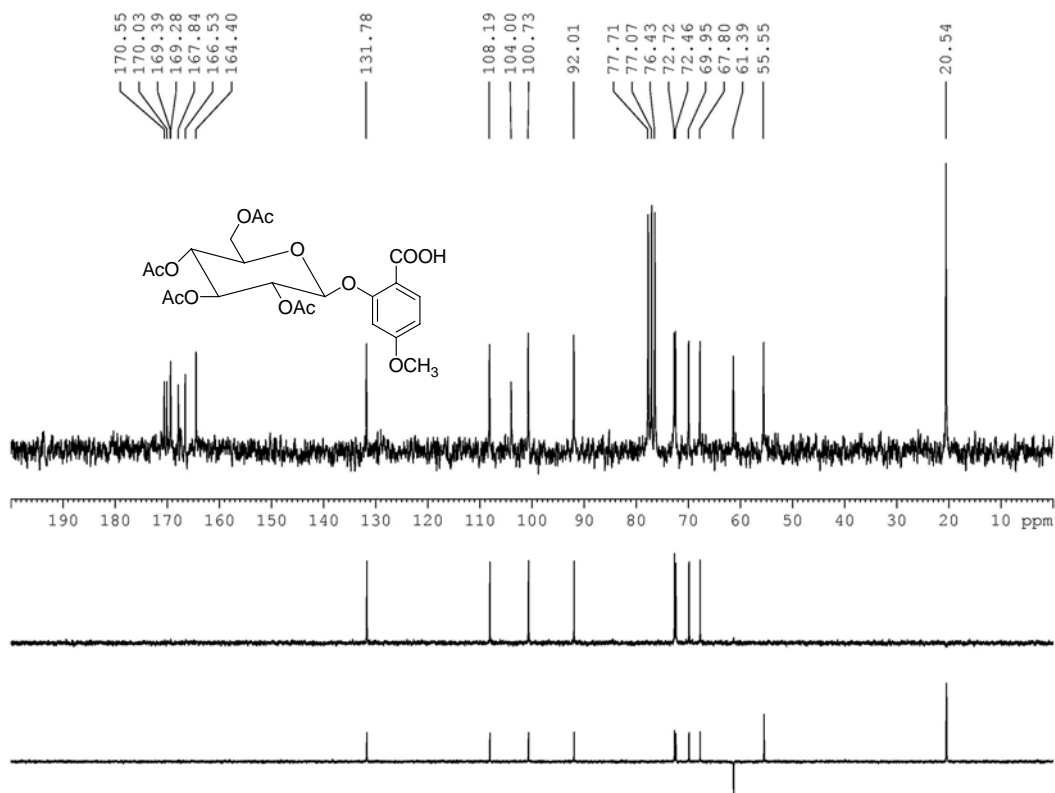


圖 50-4  $^{13}\text{C}$ -DEPT (DMSO-  $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 50

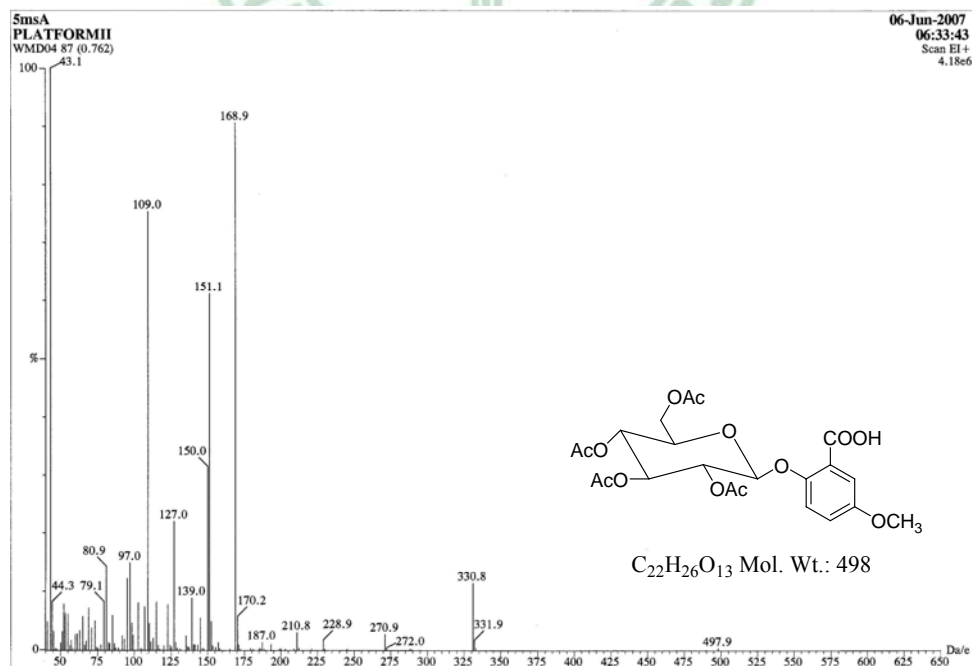


圖 51-1 MS spectrum of compound 51

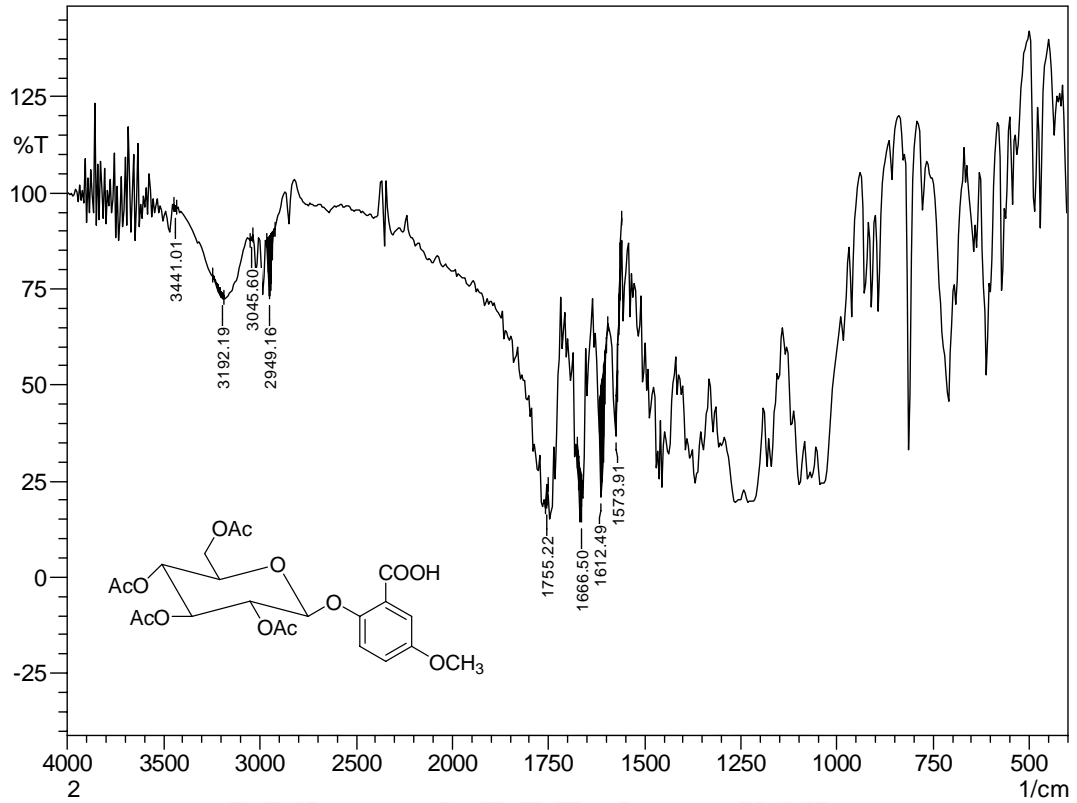


圖 51-2 IR spectrum of compound 51

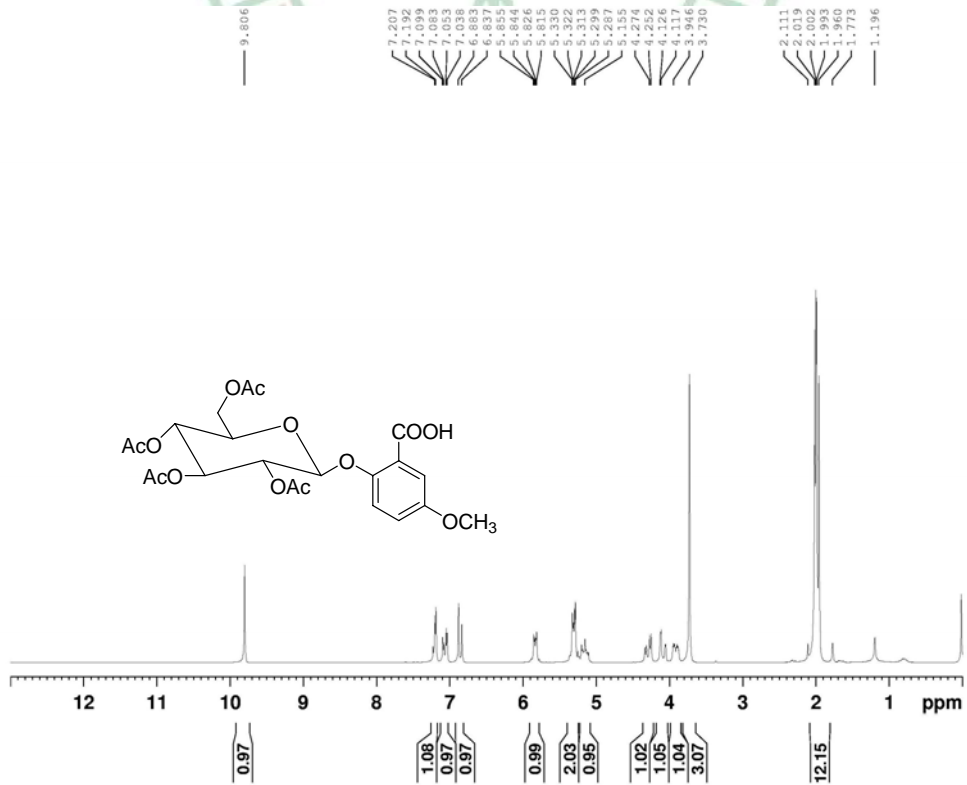




圖 51-3  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 51

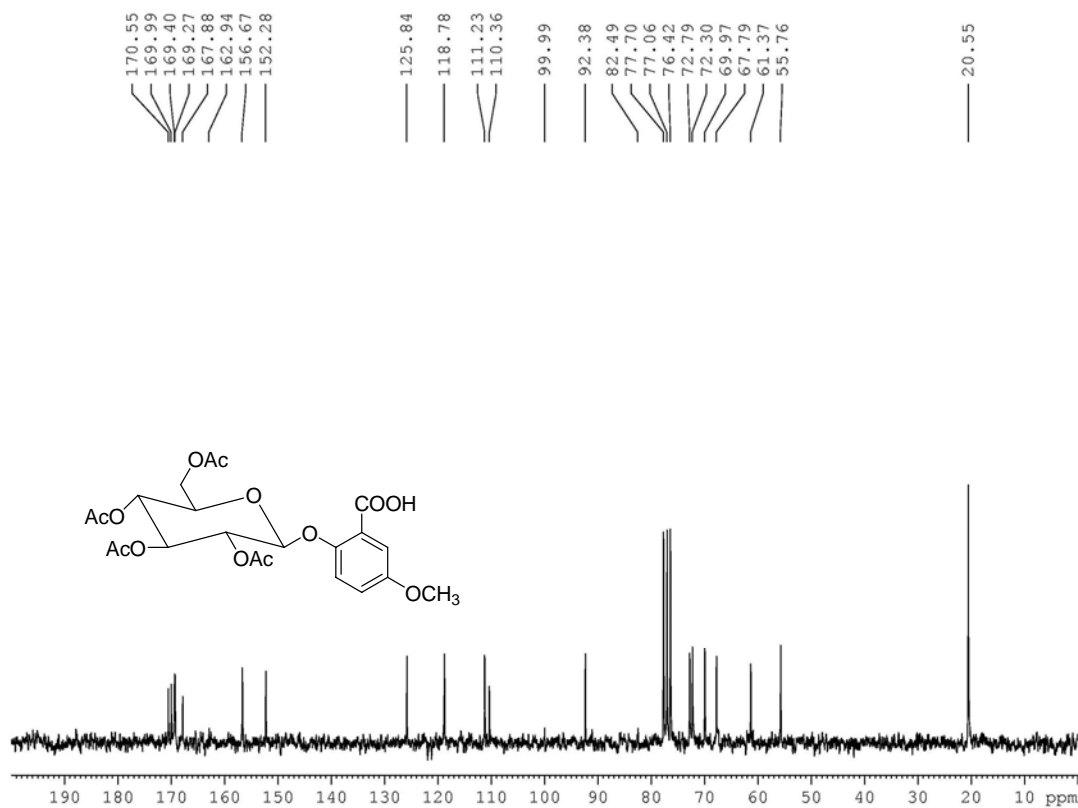


圖 51-4  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 51

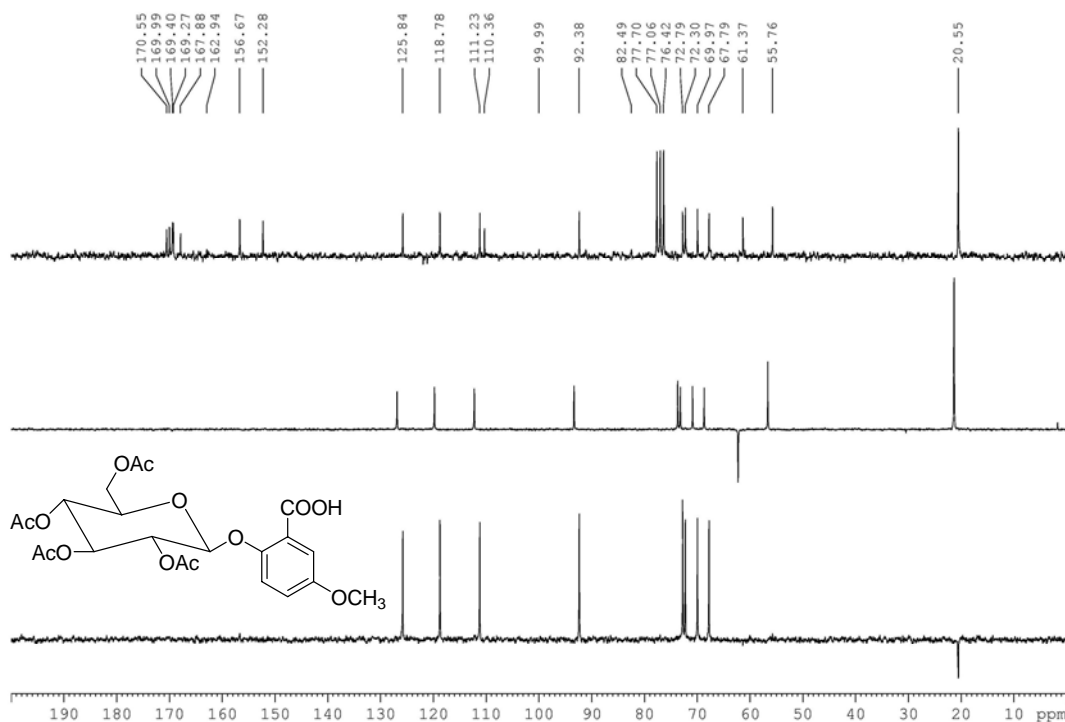


圖 51-5  $^{13}\text{C}$ -DEPT (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 51

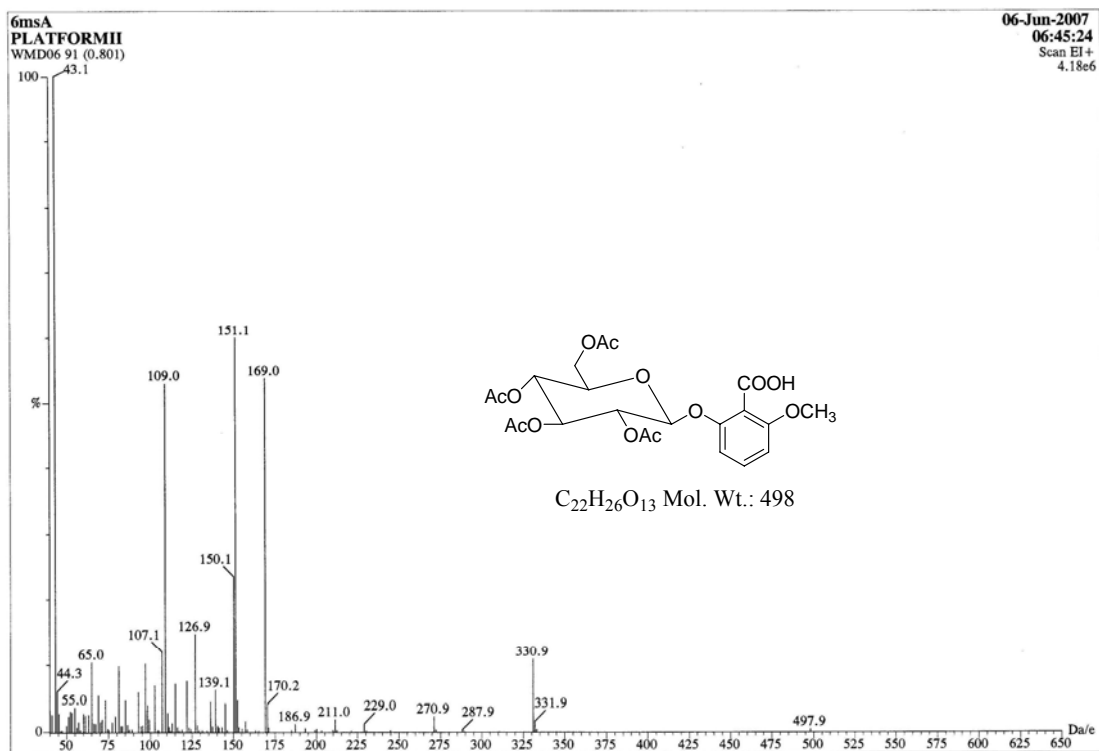


圖 52-1 MS spectrum of compound 52

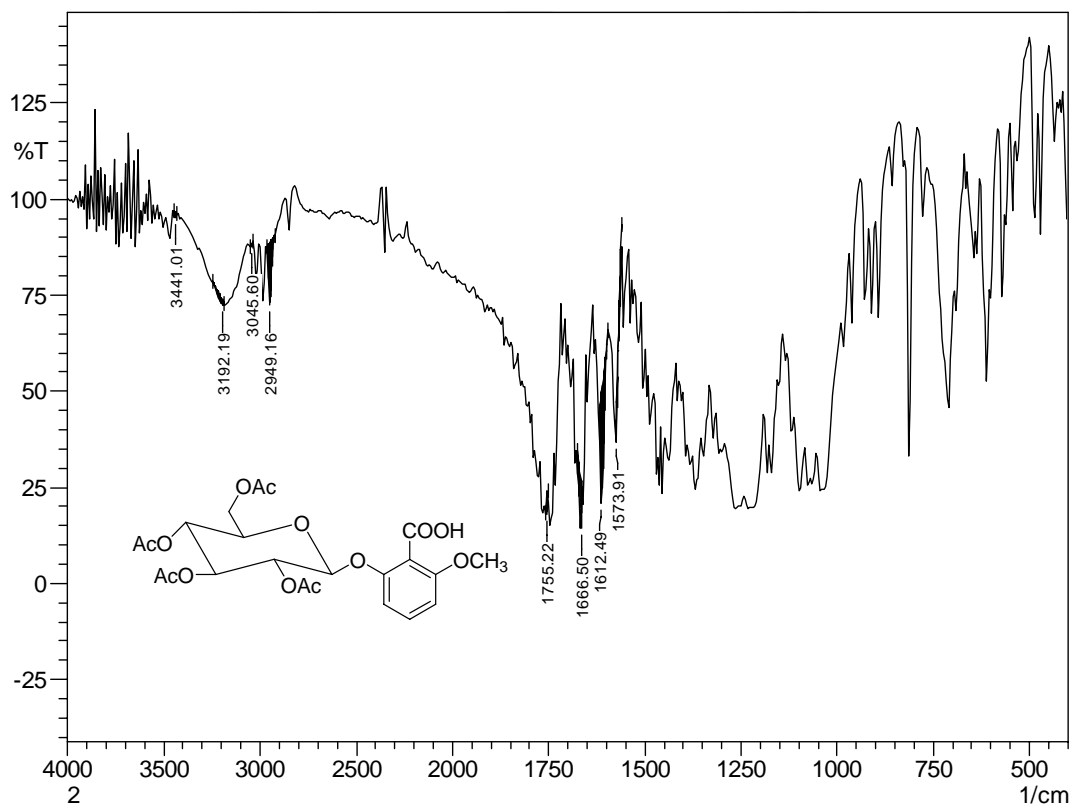


圖 52-2 IR spectrum of compound 52

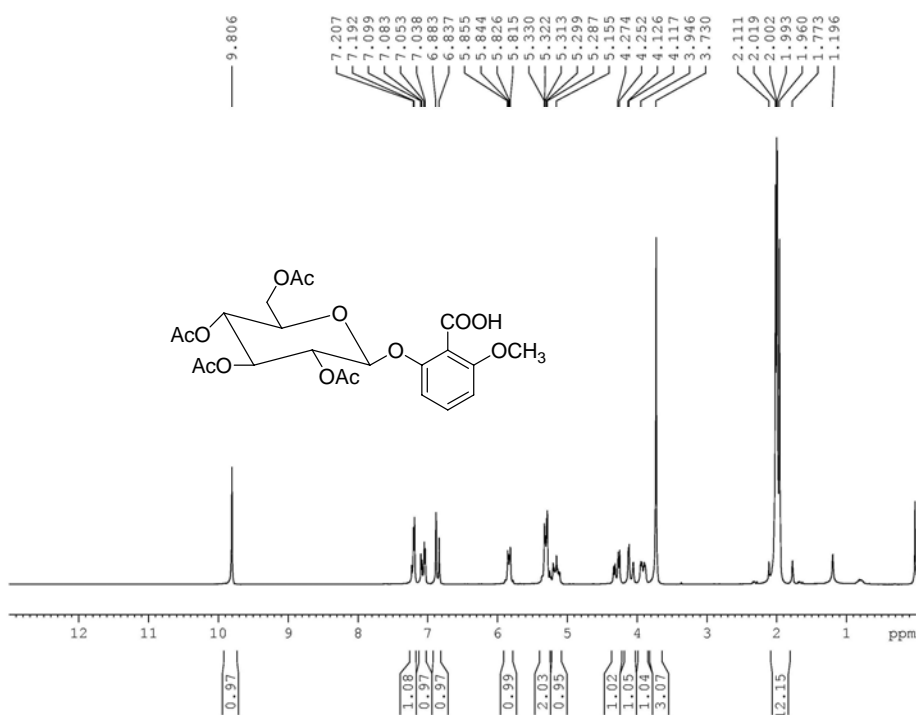


圖 52-3  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 52

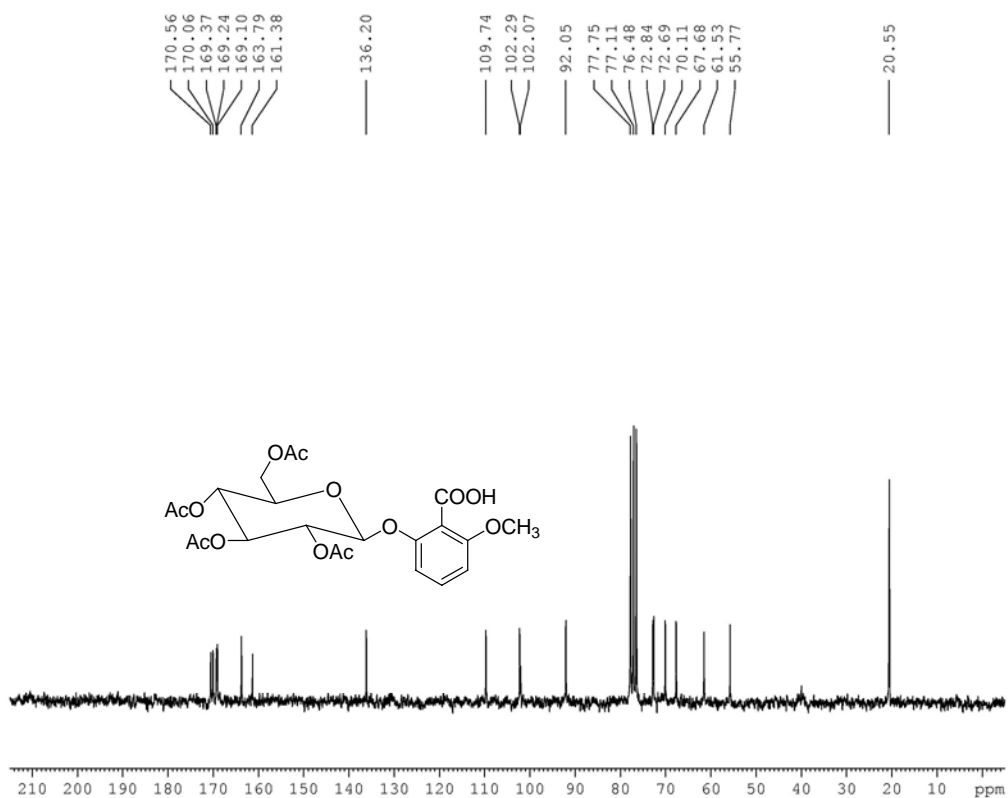


圖 52-4  $^{13}\text{C}$ -NMR (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 52

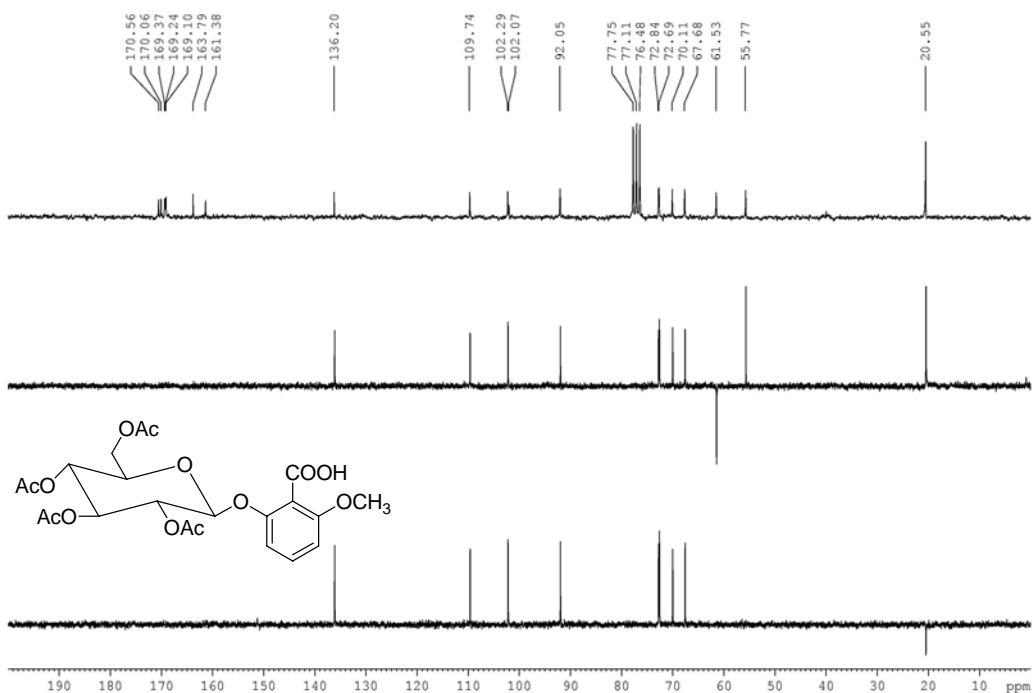


圖 52-5  $^{13}\text{C}$ -NMR (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 52

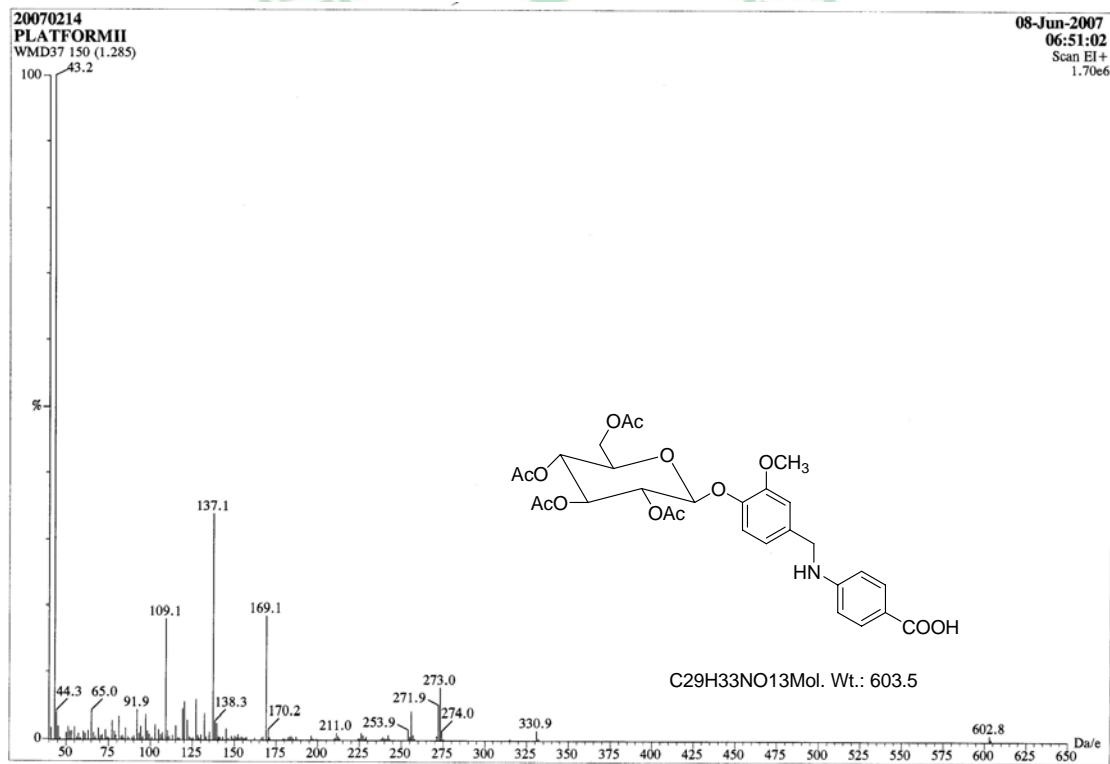


圖 53-1 MS spectrum of compound 53

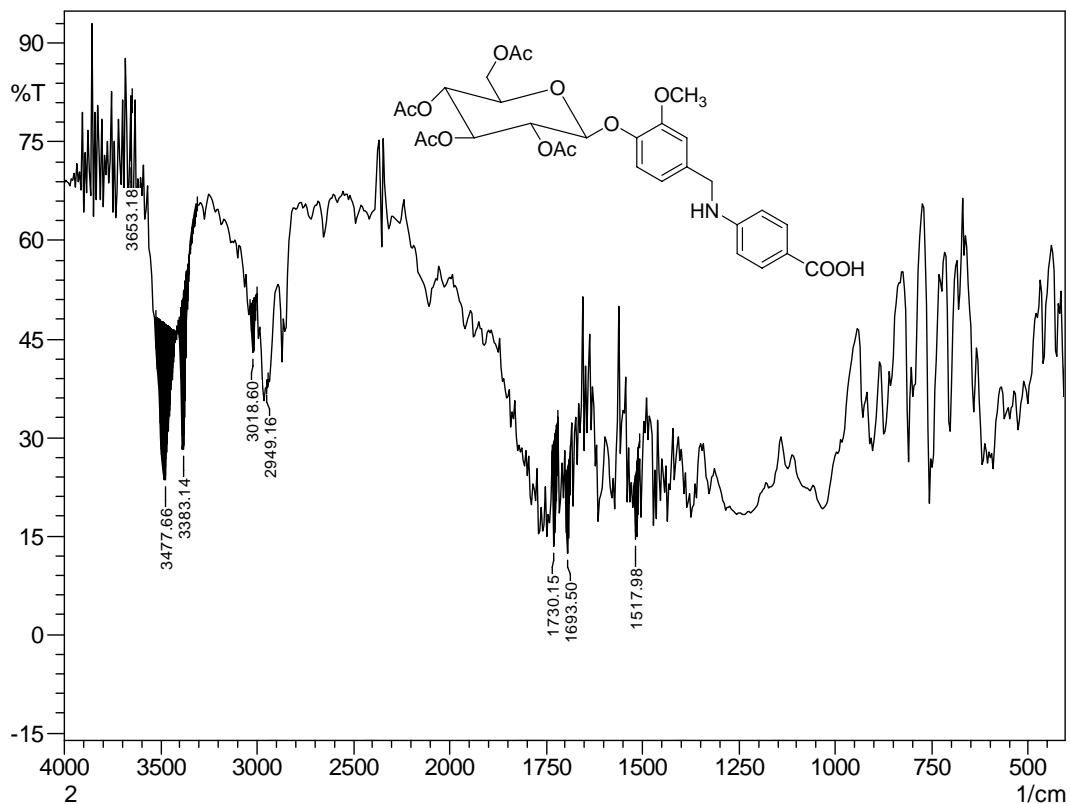


圖 53-2 MS spectrum of compound 53

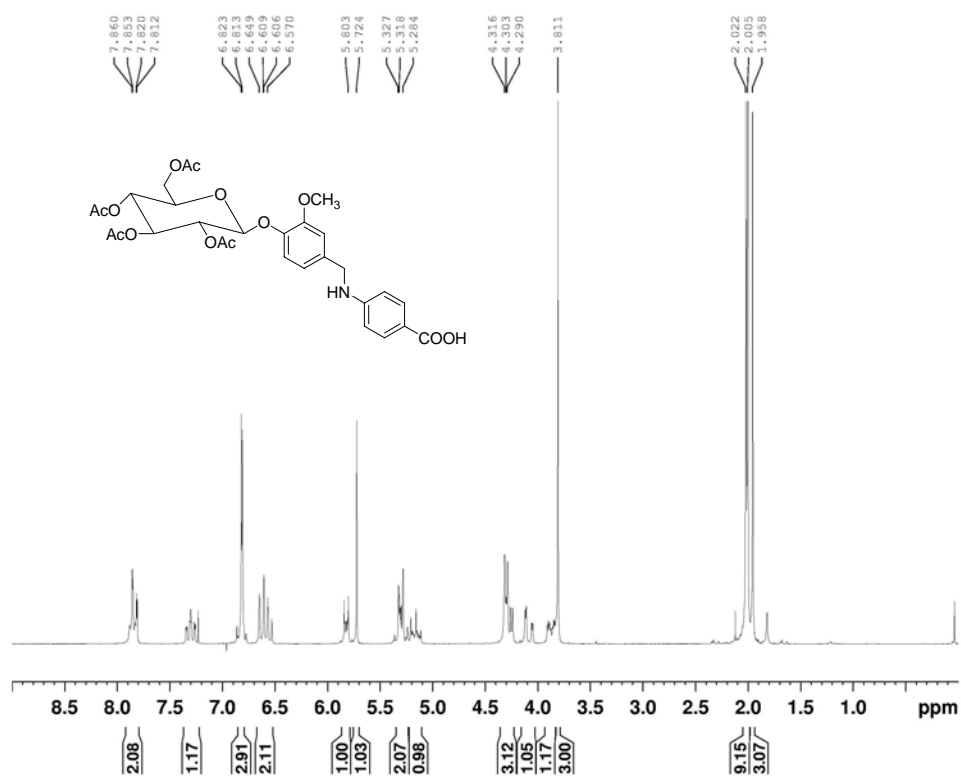


圖 53-3  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 53

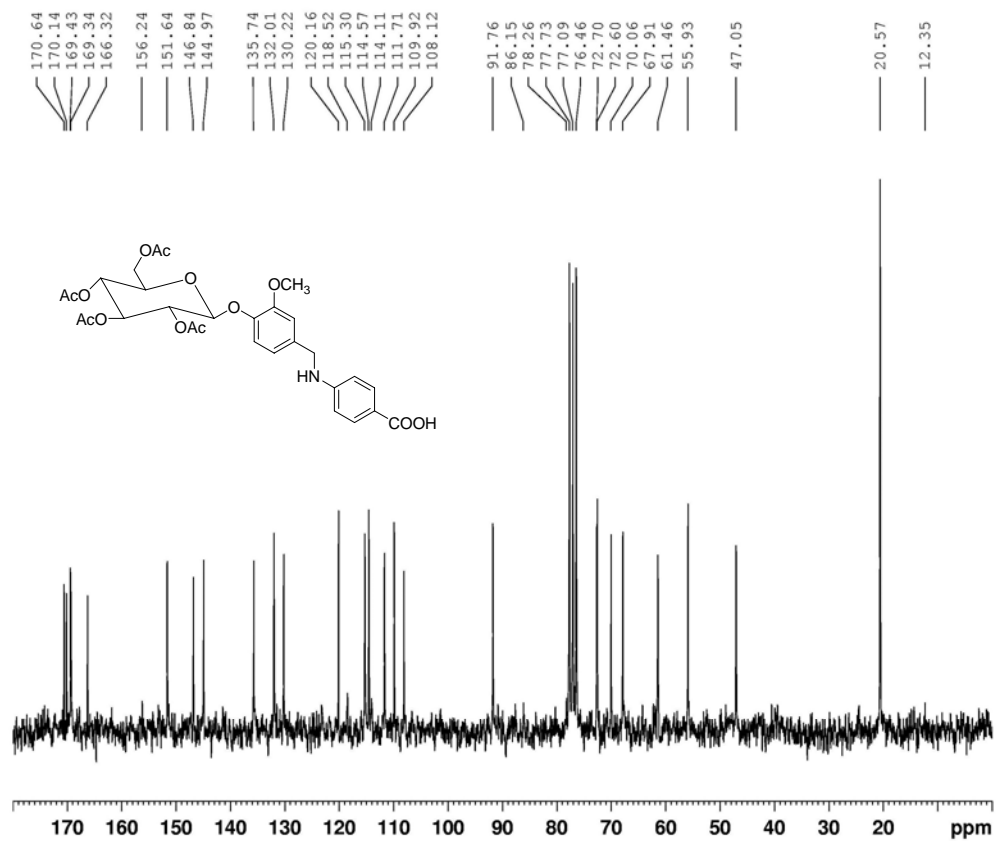


圖 53-4  $^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 53

DEPT135

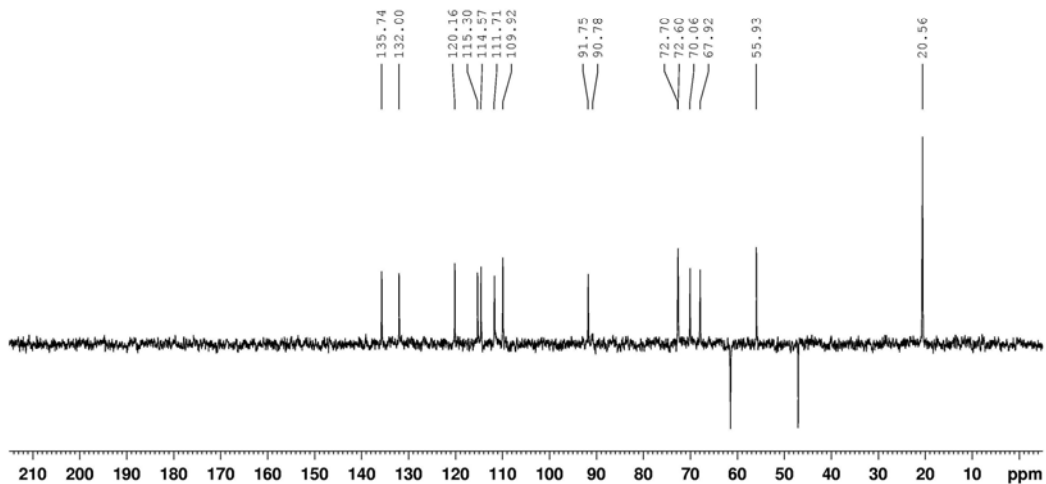
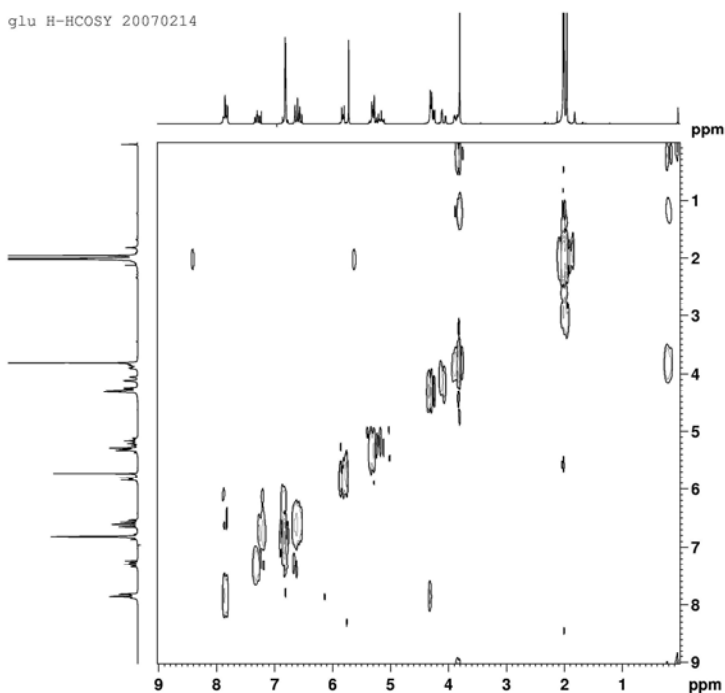


圖 53-4  $^1\text{H-}^{13}\text{C}$  COZY (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 53

glu H-HCOSY 20070214



```

Current Data Parameters
NAME          glu
EXPNO        2
PROCNO       1

F2 - Acquisition Parameters
Date_        20070526
Time         8.42
INSTRUM     spect
PROBHD      5 mm Dual 13C/
PULPROG     coasyqf90
TD          2548
SOLVENT     MeOH
NS          256
DS          16
SWH         1806.358 Hz
FIDRES     0.882011 Hz
AQ         0.3669364 sec
RG          4096
DM         276.800 usec
DE         6.50 usec
TE          5.0 K
dD         0.0000000 sec
D1         2.0000000 sec
IND        0.0005359 sec
MCREST     0.0000000 sec
MCMWRK     2.0000000 sec

----- CHANNEL f1 -----
NUC1        13
P1          11.60 usec
PL1         -3.00 dB
SFO1       200.1309079 MHz

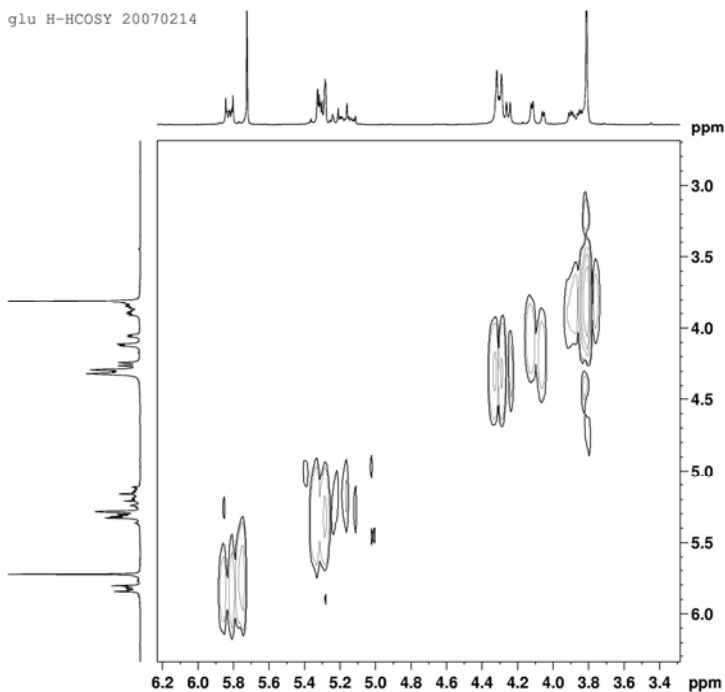
F1 - Acquisition parameters
RG          1
TD          29
SFO1       200.1309 MHz
FIDRES     62.289627 Hz
SW         9.026 ppm
FMODE      QF

F2 - Processing parameters
SI         1024
SF         200.1300052 MHz
MSW        SINE
SSB         0
LB          0.00 Hz
GB          0
PC          1.00

F1 - Processing parameters
SI         1024
MC2        QF
SF         200.1300045 MHz
MSW        SINE
SSB         0
LB          0.00 Hz
GB          0
  
```

圖 53-5  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COZY (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 53

glu H-HCOSY 20070214



```

Current Data Parameters
NAME          glu
EXPNO        2
PROCNO       1

F2 - Acquisition Parameters
Date_        20070526
Time         8.42
INSTRUM     spect
PROBHD      5 mm Dual 13C/
PULPROG     coasyqf90
TD          2548
SOLVENT     MeOH
NS          256
DS          16
SWH         1806.358 Hz
FIDRES     0.882011 Hz
AQ         0.3669364 sec
RG          4096
DM         276.800 usec
DE         6.50 usec
TE          5.0 K
dD         0.0000000 sec
D1         2.0000000 sec
IND        0.0005359 sec
MCREST     0.0000000 sec
MCMWRK     2.0000000 sec

----- CHANNEL f1 -----
NUC1        13
P1          11.60 usec
PL1         -3.00 dB
SFO1       200.1309079 MHz

F1 - Acquisition parameters
RG          1
TD          29
SFO1       200.1309 MHz
FIDRES     62.289627 Hz
SW         9.026 ppm
FMODE      QF

F2 - Processing parameters
SI         1024
SF         200.1300052 MHz
MSW        SINE
SSB         0
LB          0.00 Hz
GB          0
PC          1.00

F1 - Processing parameters
SI         1024
MC2        QF
SF         200.1300045 MHz
MSW        SINE
SSB         0
LB          0.00 Hz
GB          0
  
```

圖 53-6 H-H COZY (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 53

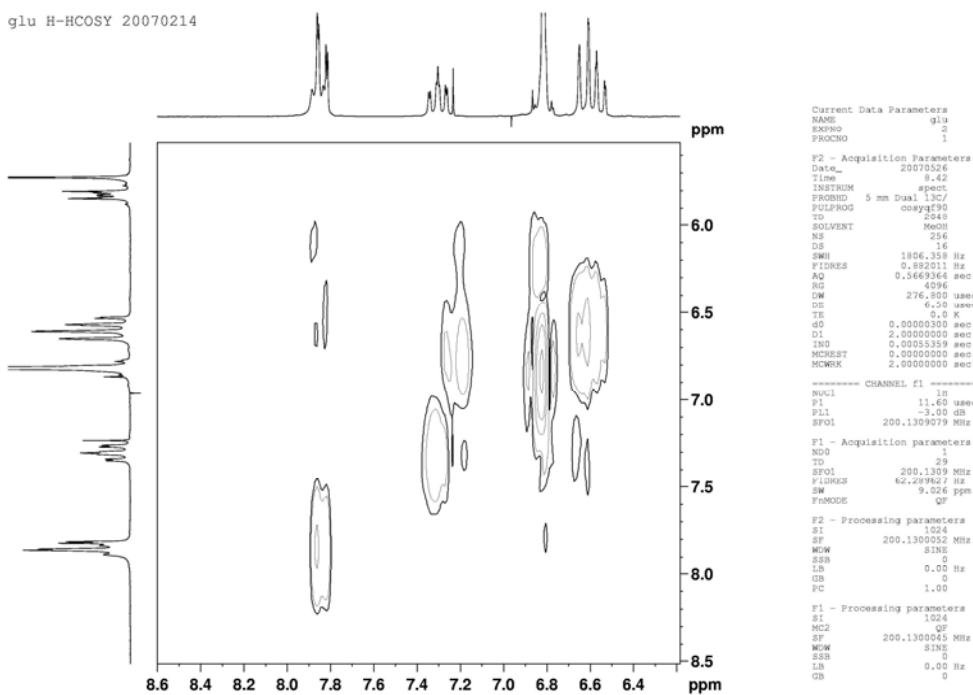


圖 53-7  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COZY (DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 53

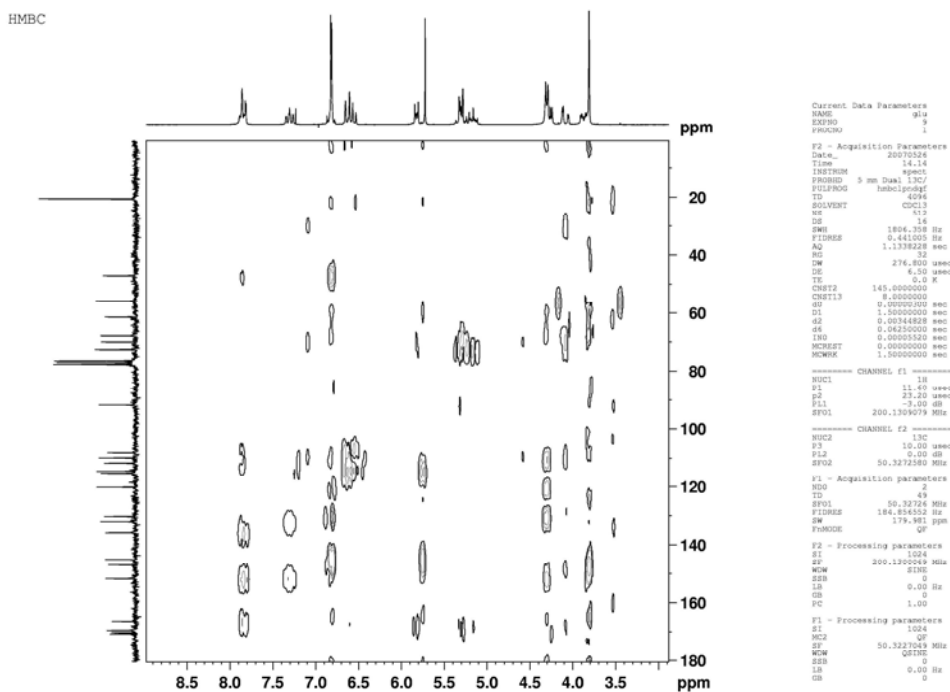


圖 53-8 HMBC(DMSO- $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 53



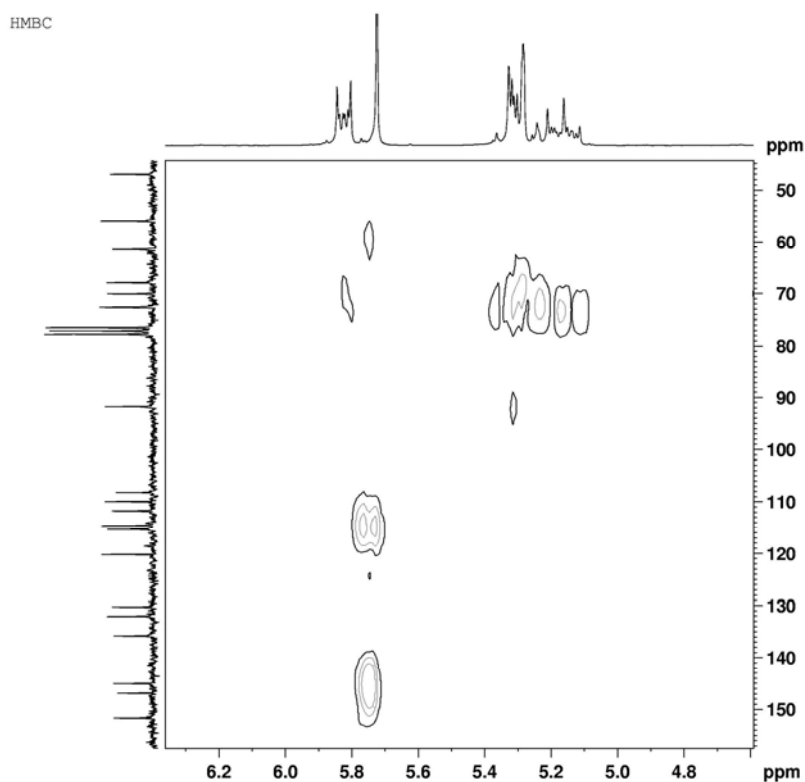


圖 53-9 HMBC (DMSO-  $d_6$ , 200MHz) spectrum of compound 53

附錄(2)分子對照表

結構	化學名稱	實驗代號
3	4-acetoxy-3-methoxy benzyl chloride	20060504
13	phenylbenzamide	20070514
14	<i>N</i> -(2-fluorophenyl)-3-nitrobenzamide	20070518
15	<i>N</i> -(2-methylphenyl)-3-nitrobenzamide	20070522
16	<i>N</i> -(2-ethylphenyl)-3-nitrobenzamide	20070520
17	<i>N</i> -(2-methoxy-phenyl)- 3-nitrobenzamide	20070517
18	ethyl 2-(benzamido)benzoate	20070511
19	ethyl 2-(4-methoxy-benzamido)benzoate	20070601
20	ethyl 2-(3-nitrobenzamido)benzoate	20070523
25	Methyl 3-methoxy salicylate(wmd007)	20060216
26	Methyl 4-methoxy salicylate(wmd003)	20060307
27	Methyl 5-methoxy salicylate(wmd005)	20060310
28	Methyl 6-methoxy salicylate(wmd004)	20060311
34	2-[(4-Acetoxy-3-methoxy)benzyloxy] benzoic acid(wmd022)	20061012
35	4-methoxy-2-[(4-Acetoxy-3-methoxy)benzyloxy]benzoic acid	20061117

36	5-methoxy 2-[(4-Acetoxy-3- methoxy)benzyloxy]benzoic acid	20061118
37	6-methoxy 2-[(4-Acetoxy-3-methoxy benzyloxy)]benzoic acid	20061119
38	Methyl 2-(4-acetoxy-3-methoxy benzyloxy)4-methoxy benzoate(wmd028)	20061207
42	2-chloro-(4-acetoxy-3-methoxy benzylamine) benzene	20070516
43	2-methyl-(4-acetoxy-3-methoxy benzylamine) benzene (wmd 049)	20070525
44	Ethyl 2-(4-acetoxy-3-methoxybenzylamine) benzoate(md18)	20060929
45	ethyl2-(4-hydroxy-3-methoxybenzylamino)benzoate(wmd19)	20061010
46	2-(4-hydroxy-3-methoxy benzylamino) benzoic acid(wmd32)	20070210
49	2-( $\alpha$ -D-acetyl-Glucose) benzoic acid	20061212
50	2-( $\alpha$ -D-acetyl-Glucose)-4-methoxy benzoic acid(wmd027)	20061214
51	2-( $\alpha$ -D-acetylglucose)-5-methoxy benzoic acid(wmd030)	20061215
52	2-( $\alpha$ -D-acetyl-Glucose)-6-methoxy benzoic acid(wmd029)	20061216
53	2-[(3-methoxy benzylamino-4- $\alpha$ -acetyl-Glucose)] benzoic acid(wmd034)	20070214

